

ISBN : 978-979-8507-14-4

PROSIDING
LOKAKARYA NASIONAL BUDIDAYA
TANAMAN KARET 2006

Medan, 4 - 6 September 2006

Penyunting :

Sumarmadji
Nurhawaty Siagian
Aidi Daslin
Istianto
Irwan Suhendry
Tuti Kustyanti



BALAI PENELITIAN SUNGEI PUTIH
PUSAT PENELITIAN KARET

PENERBIT
BALAI PENELITIAN SUNGAI PUTIH
PUSAT PENELITIAN KARET

Kotak Pos : 1415 Medan 20001
Telepon : (061) 7980045
Faximile : (061) 7980046
e-mail : balitsp@indosat.net.id

Singkatan judul :
Pros. Lok. Nas. Budidaya Tanaman Karet 2006

DAFTAR SUSUNAN PANITIA
LOKAKARYA NASIONAL BUDIDAYA TANAMAN KARET 2006
Medan, 4 - 6 September 2006

Pelindung	: Dr. Ir. Didiek Hadjar Goenadi, M.Sc.
Ketua	: Dr. Ir. Chairil Anwar, M.Sc.
Sekretaris	: Dr. Karyudi
Anggota	: 1. Ir. Amal Bhakti Pulungan, MM. 2. Ir. Batara Girsang, MM. 3. Dr. Gede Wibawa, M.Sc. 4. Dr. M.Prama Yufdy, M.Sc. 5. Ir. H.Syarifullah Harahap, M.Si.

Panitia Pelaksana (OC)

Ketua	: Dr. Karyudi
Wakil Ketua	: Ir. Aidi Daslin Sagala, MS.
Sekretaris	: Dr. Ir. Sumarmadji, MS.
Wakil Sekretaris	: Ir. Tuti Kustyanti, MS.

Bendahara	: Afrizal A.R.
-----------	----------------

Seksi-seksi

Makalah	: Ir. Nurhawaty Siagian, MS. Ir. Maurid Ompusunggu Radite Tistama, M.Si. Serafina T.R., SP., MP.
---------	---

Persidangan dan Dokumentasi	: Ir. Irwan Suhendry Arief Rachmawan, S.Si. Suhermanto Agung Wibowo, STP.
-----------------------------	---

Pameran, Sponsor , Dana	: Ir. Istianto, MS. Ir. Haposan Munthe Dra. Darwini Sitompul Ir. Sujatno
-------------------------	---

Kunjungan Lapangan	: Ir. Supriyanto Heri Husnan, SP. Priyo Adi Nograho, SP
--------------------	---

Konsumsi dan Kesenian	: Dra. Sekar Woelan Ernita Bukit, SP. Hartini Ninik Hendrika
-----------------------	---

Susunan panitia

Akomodasi, Transportasi, Umum : Yusid Sopian
Drs. Tukidi
Syafrizal Ray, B.Sc.
Aldil Rahmat
Nurainum Siregar, SE

Tim Perumus

Ketua

Sekretaris

Anggota

: Dr. M. Supriadi, MS.
: Dr. Sumarmadji, MS.
: Ir. Istianto, MS.
Dr. Thomas Wijaya, M. Agr.Sc.
Ir. THS Siregar, MS.
Dr. Hananto Hadi, MS.
Ir. Sudiharto, MS.

PELUANG APLIKASI STEK MIKRO (MICROCUTTING) UNTUK PERBANYAKAN BATANG BAWAH KLONAL PADA TANAMAN KARET

Nurhaimi-HARIS ¹⁾, SISWANTO¹⁾, SUMARMADJI²⁾, Hananto HADI²⁾,
Radite TISTAMA²⁾ dan Marc-Philippe CARRON³⁾

¹⁾ Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan

²⁾ Pusat Penelitian Karet

³⁾ French Agricultural Research Centre for International Development
(CIRAD), Montpellier, Perancis

Ringkasan

Perbanyak tanaman karet (*Hevea brasiliensis*, Muell. Arg.) melalui teknik okulasi dengan cara menempelkan mata tunas batang atas ke batang bawah masih merupakan cara perbanyak klonal yang umum digunakan. Batang atas dengan karakter yang baik dan sesuai diperoleh melalui program pemuliaan dan kemudian diperbanyak secara klonal. Akan tetapi batang bawah umumnya menggunakan tanaman asal biji. Penggunaan tanaman asal biji sebagai batang bawah memiliki kelemahan, antara lain ketersediaan biji tidak mencukupi tergantung musim serta jenis klon sebagai sumber biji. Di samping itu batang bawah asal biji dapat menyebabkan ketidakseragaman serta adanya masalah inkompatibilitas dengan batang atas, yang dapat menurunkan produksi tanaman. Perbanyak klonal tanaman karet melalui teknologi *microcutting* yang berbasis kultur *in vitro* dimulai di Perancis (CIRAD) sejak tahun 1980-an. Tanaman yang dihasilkan telah sampai pada tahap pengujian lapang dan terbukti memiliki akar tunggang dan akar lateral yang baik. Selama dua tahun pertama penyesuaian, produksinya 20% lebih tinggi (kg karet kering/pohon) dibandingkan dengan tanaman klon yang diperbanyak melalui okulasi. Dengan demikian teknologi tersebut memiliki peluang aplikasi, baik untuk perbanyak klonal batang bawah maupun batang atas. Semenjak tahun 2005 kerjasama penelitian telah dimulai antara Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia (BPBPI), Pusat Penelitian Karet dan CIRAD (Perancis) yang bertujuan untuk adaptasi dan implementasi teknologi *microcutting* sesuai lingkungan dan bahan tanam yang terdapat di Indonesia. Peluang aplikasi memungkinkan apabila beberapa masalah utama dapat diatasi. Masalah tersebut yaitu tingginya tingkat kontaminasi, terutama pada tahap kultur primer (*primary culture*) di daerah beriklim tropis seperti Indonesia, adanya perbedaan respon tanaman sebagai sumber eksplan pada lingkungan kultur, serta tingginya tingkat kematian plantlet dalam proses aklimatisasi. Beberapa masalah tersebut telah diupayakan solusinya melalui adaptasi teknologi dalam rangka kerjasama penelitian. Tulisan ini merupakan rangkuman dari kemajuan penelitian *microcutting* tanaman karet secara umum serta hasil yang telah dicapai dalam kerjasama penelitian untuk membuka peluang penggunaannya dalam perbanyak batang bawah klonal tanaman karet.

Kata kunci: *Hevea brasiliensis*, *microcutting*, multiplikasi, batang bawah

PENDAHULUAN

Permintaan bahan tanam karet untuk keperluan peremajaan serta pembukaan areal baru semakin meningkat belakangan ini. Hal tersebut dipicu oleh membaiknya harga karet di pasar dunia, mencapai 2,3 US dolar/kg karet kering, yakni meningkat hampir 4 kali lipat dibandingkan dengan harga di tahun 2003. Akan tetapi pemenuhan kebutuhan bahan tanam untuk keperluan tersebut sulit dicapai.

Sampai saat ini penyediaan bahan tanam karet klonal dengan sistem okulasi masih merupakan cara propagasi terbaik pada tanaman karet. Batang atas dengan karakter yang diinginkan diperoleh melalui proses seleksi dalam program pemuliaan dan kemudian diperbanyak secara klonal melalui teknik okulasi, sedangkan batang bawah umumnya merupakan tanaman asal biji. Kelemahan utama penggunaan seedling sebagai batang bawah adalah ketersediaan biji tidak mencukupi karena tergantung musim dan jenis klon serta adanya variasi batang bawah. Di samping itu sering ditemukan inkompatibilitas batang bawah dengan klon batang atas sehingga kombinasi tersebut kurang mampu menampilkan potensi produksi dan karakter unggul lainnya secara maksimal (Buttery, 1961; Madjid, 1974; Abbas & Ginting, 1981; Ng *et al.*, 1982). Oleh karena itu meskipun melalui program pemuliaan telah dihasilkan klon karet generasi ke empat dengan potensi produksi sekitar 3.500 kg/ha/tahun (Azwar & Suhendry, 1998; Azwar *et al.*, 2000) dan dengan karakter sekunder yang baik (Woelan *et al.*, 2000), namun potensi tersebut tidak dapat ditampilkan secara optimal.

Bahan tanam yang seragam dan tersedia tanpa tergantung musim dapat diperoleh melalui perbanyakan klonal. Untuk itu teknik mikro-propagasi berbasis kultur *in vitro* aseptik dapat dilakukan melalui proses organogenesis, embriogenesis somatik dan *microcutting* (Trigiano & Gray, 1999), dimana dua metode terakhir telah berhasil baik pada tanaman karet (Carron *et al.*, 1998; Lardet *et al.*, 1994). Keberhasilan teknologi *microcutting* dan embriogenesis somatik membuka peluang penerapannya dalam perbanyakan klonal tanaman karet. Melalui teknologi *microcutting* batang bawah klonal seragam dengan kualitas baik dan tidak tergantung musim serta sesuai dengan kondisi lingkungan pertanaman karet di Indonesia dapat dihasilkan. Di samping itu teknik tersebut membuka peluang untuk menyeleksi genotipe batang bawah yang vigor, tahan kekeringan serta toleran terhadap berbagai penyakit perakaran pada tanaman karet. Cara tersebut juga dapat dimanfaatkan untuk perbanyakan non-konvensional klon batang atas unggul sehingga akan diperoleh klon utuh yang didukung oleh perakarannya sendiri.

Berdasarkan hal tersebut di atas sejak pertengahan tahun 2005, kerjasama penelitian telah dimulai antara Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia (BPBPI) dan Pusat Penelitian Karet, yakni dua institusi penelitian di bawah koordinasi Lembaga Riset Perkebunan Indonesia (LRPI), dengan **French Agricultural Research Center for International Development (CIRAD)**, Perancis. Kerjasama tersebut pada tahap awal bertujuan untuk

peluang aplikasi stek mikro untuk perbanyakan batang bawah klonal pada tanaman karet

mengimplementasikan teknologi *microcutting* dalam perbanyakan batang bawah klonal tanaman karet, dan pada tahap lanjut dalam perbanyakan klon utuh bahan tanam karet unggul. Tulisan ini merupakan rangkuman dari kemajuan penelitian *microcutting* tanaman karet secara umum serta hasil yang telah dicapai dalam rangka kerjasama penelitian tersebut untuk membuka peluang penggunaannya dalam perbanyakan batang bawah klonal tanaman karet.

PERKEMBANGAN TEKNOLOGI MICROCUTTING DALAM PERBANYAKAN KLONAL TANAMAN KARET

Dari berbagai cara perbanyakan tanaman secara klonal, setek (*cutting*) merupakan cara yang relatif sederhana dibandingkan dengan teknik lainnya seperti penyambungan (*grafting*) atau penempelan mata tunas (*budding*). Keistimewaan setek selain merupakan perbanyakan vegetatif adalah bahan tanam yang dihasilkan merupakan klon utuh (*whole clone*) karena tidak memerlukan batang bawah seperti pada proses penyambungan atau penempelan. Bahan tanam yang diperoleh melalui setek jauh lebih seragam disebabkan tidak terdapat pengaruh batang bawah yang umumnya berasal dari biji. Akan tetapi aplikasi setek pada tanaman karet dewasa terkendala karena tingkat keberhasilan rendah serta kesulitan mendapatkan akar tunggang, sehingga tanaman rentan terhadap kekeringan dan angin (Webster, 1989). Oleh karena itu cara perbanyakan yang digunakan adalah melalui okulasi atau *budding* yaitu dengan menempelkan mata tunas batang atas ke batang bawah sehingga bersifat semi vegetatif karena masih memerlukan batang bawah untuk mendukung klon batang atas.

Perbanyakan klonal tanaman karet melalui kultur *in vitro* untuk mendapatkan klon utuh, baik melalui teknologi *microcutting* maupun embriogenesis somatik telah dirintis sejak tahun 1980-an oleh tim peneliti dari CIRAD-Perancis (Enjalric & Carron, 1982). Teknologi *microcutting* dapat dimanfaatkan untuk perbanyakan klon-klon terseleksi dan dilaporkan memiliki keunggulan karena berpeluang untuk meningkatkan keseragaman serta produktivitas tanaman (Carron & Enjalric, 1983). Teknologi tersebut merupakan salah satu bentuk spesifik dari organogenesis karena dapat menghasilkan tunas (*shoots*) dari jaringan meristem yang terdapat pada sumber bahan tanam (eksplan).

Pada awal pelaksanaannya hambatan utama keberhasilan teknologi *microcutting* berkaitan dengan kemampuan untuk menekan tingkat kontaminasi pada fase kultur primer, dimana eksplan pada fase tersebut berasal dari bahan tanam yang dipelihara di rumah kaca. Kesulitan dilaporkan semakin meningkat di daerah dengan kelembaban tinggi seperti Pantai Gading (Ivory Coast) dan Asia Tenggara (Enjalric *et al.*, 1988), dimana tanaman karet banyak dibudidayakan. Daerah beriklim tropis dengan kelembaban tinggi tersebut sangat sesuai untuk pertumbuhan dan perkembangan kontaminan berupa jamur dan bakteri sehingga sering menjadi faktor pembatas utama

untuk keberhasilan proses *microcutting*. Untuk menekan tingkat kontaminasi, pra-kondisi terhadap sumber eksplan atau tanaman induk (*mother plants*) di rumah kaca yang dikombinasikan dengan perlakuan disinfektan dan bahan antimikroba serta dengan menyeleksi eksplan pada tanaman induk, ternyata cukup efektif (Enjalric *et al.* 1988). Pemberian fungisida secara teratur terhadap tanaman induk juga merupakan salah satu cara untuk menekan tingkat kontaminasi.

Di samping itu, keberhasilan teknologi *microcutting* juga ditentukan oleh kesesuaian komposisi media tumbuh yang digunakan selama periode kultur. Ketidak-seimbangan unsur mineral pada tahap inisiasi, multiplikasi maupun aklimatisasi berpengaruh besar terhadap pertumbuhan dan perkembangan tunas. Lardet *et al.*, (1994) melaporkan bahwa selama fase multiplikasi helaian daun pada tunas menjadi tipis dan tangkai daun berwarna kuning pucat serta terkadang muncul gejala nekrosis pada ujung daun. Umumnya tunas dengan gejala yang demikian gagal membentuk perakaran.

Lardet *et al.*, (1994) melaporkan analisis terhadap tunas yang dihasilkan pada fase kultur primer menunjukkan bahwa kandungan P, K, Na, Cl dan Zn meningkat, sedangkan kandungan Ca, Mg, Fe dan Cu berkurang. Pada fase tersebut rasio N/P, N/K, Mg/P dan K/Na sangat rendah, sedangkan rasio K/Mg, K/P dan K/Ca sangat tinggi. Pada fase multiplikasi komposisi mineral pada tunas juga tidak seimbang dibandingkan dengan komposisi mineral pada tanaman induknya, dimana rasio N/P dilaporkan sangat rendah, rasio K/Ca sangat tinggi, sedangkan rasio K/Na cenderung normal. Selama fase perakaran dan aklimatisasi komposisi mineral cenderung kembali seimbang, namun tetap terjadi defisiensi pada beberapa nutrisi.

Ketidakseimbangan komposisi mineral selama fase kultur primer dan multiplikasi mengarah pada ketersediaan kandungan air di dalam sel. Beberapa nutrisi seperti K dan Ca berperan langsung dalam regulasi status air di dalam sel tanaman, sedangkan defisiensi Cu menyebabkan kematian jaringan meristem sehingga mengganggu perkembangan daun. Dengan demikian rasio K/Ca yang tinggi dan kandungan Cu yang rendah pada tunas kemungkinan besar berperan dalam munculnya gejala seperti nekrosis. Berdasarkan pengetahuan yang diperoleh pada setiap fase pertumbuhan kultur *in vitro* tim CIRAD telah memantapkan prosedur *microcutting* tanaman karet dengan komposisi media tumbuh yang disesuaikan untuk setiap tahapan kultur.

Dengan menggunakan klon IRCA 18 sebagai sumber eksplan, sepanjang tahun 1991 – 1992 telah dihasilkan sebanyak 10.000 plantlet, 89% di antaranya membentuk perakaran pada awal proses aklimatisasi (Carron *et al.*, 2000; 2003). Sebanyak 110 plantlet kemudian diteruskan untuk pengujian lapang. Selama 3 tahun pertama di lapangan dilaporkan bahwa pertumbuhan *vitroplant* asal *microcutting* tidak berbeda nyata dengan pertumbuhan tanaman okulasinya

(kontrol). Hanya pada tahun ke-4 dan seterusnya laju pertumbuhan *vitroplant* lebih tinggi dibandingkan tanaman okulasi dan pada tahun ke-5 lingkaran batangnya lebih tinggi 6%, yang diukur pada ketinggian 1 m di atas permukaan tanah. Pada 2 tahun pertama penyesuaian dilaporkan produksi pohon asal *microcutting* 20% lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman okulasinya. Di samping itu tanaman *microcutting* dewasa di lapang menunjukkan pertumbuhan yang seragam dan apabila diamati setiap tanaman asal *microcutting* memiliki bentuk konikal pada batang bagian bawah. Bentuk tersebut menunjukkan perbedaan dengan tanaman dewasa yang diperbanyak melalui okulasi, dimana pada daerah pertautan batang atas dan batang bawah terjadi pelebaran lingkaran batang.

Aplikasi teknologi *microcutting* tentunya memerlukan penyesuaian terhadap lingkungan dan bahan tanam yang digunakan sebagai sumber eksplan. Carron *et al.*, (2003) mengemukakan bahwa hasil penelitian yang telah dipublikasikan adalah spesifik untuk klon IRCA 18. Klon atau genotipe karet yang lain bisa saja memberikan respon berbeda terhadap perlakuan selama proses *microcutting*. Di samping itu, Tan (1995) juga mengemukakan bahwa efek metode propagasi sangat bervariasi tergantung genotipe yang digunakan. Oleh karena itu proses adaptasi umumnya diperlukan untuk klon atau genotipe yang berbeda.

PROSES TEKNOLOGI MICROCUTTING PADA TANAMAN KARET

Berdasarkan "Technical Notes" dari Cirad, produksi tanaman karet klonal melalui teknologi *microcutting* dilakukan melalui 5 fase, secara garis besar adalah sebagai berikut :

Fase 1 : Kultur awal/kultur primer (Initial culture/Primary culture)

Fase ini meliputi pemilihan bahan tanam, sterilisasi, dan pemisahan eksplan dari bahan tanam tersebut. Pada tahap ini bahan tanam sebagai sumber eksplan adalah tanaman *seedling* muda di rumah kaca yang telah memiliki dua unit payung daun dengan tinggi sekitar 50 cm dari daerah pertautan okulasi dan daun telah tumbuh sempurna. Dalam hal ini eksplan adalah nodal yang memiliki mata tunas (*axillary buds*) yang terdapat disepanjang batang tanaman.

Pada fase ini sterilisasi merupakan tahapan penting yang perlu mendapat perhatian khusus karena sering menjadi faktor pembatas dalam keberhasilan aplikasi teknologi *microcutting*. Sterilisasi dilaksanakan hanya pada awal kultur primer dan dilakukan secara bertahap disebabkan bahan tanam sebagai sumber eksplan dipelihara di lingkungan rumah kaca yang tidak sepenuhnya bisa diupayakan steril.

Sebagai salah satu cara mikropropagasi yang merupakan bentuk khusus dari organogenesis, penerapan teknologi *microcutting* melibatkan pembentukan tunas dari jaringan meristem yakni *axillary buds*, yang umumnya memiliki dominansi apikal. Untuk itu dominansi tersebut perlu dihilangkan, umumnya dilakukan melalui perendaman eksplan selama beberapa jam dalam media cair yang mengandung zat pengatur tumbuh, sebelum eksplan tersebut dikulturkan pada media padat. Kultur primer memerlukan waktu antara 4 – 6 minggu.

Fase 2 : Multiplikasi

Fase multiplikasi dapat dibedakan atas multiplikasi awal, yang merupakan subkultur pertama setelah kultur primer, serta multiplikasi tahap lanjut yang merupakan subkultur kedua dan seterusnya. Pada fase multiplikasi awal, bahan tanam adalah eksplan dari tanaman *seedling* muda yang memasuki tahap akhir pada kultur primer. Dengan demikian eksplan dapat terdiri atas 3 macam, yakni : (i) '*stock explant*' (S), yaitu eksplan awal pada kultur primer yang berasal dari rumah kaca, (ii) '*nodal explant*' (N), yaitu eksplan yang diperoleh dari batang yang tumbuh selama kultur primer, dan (iii) '*shoots*' (ST), yaitu eksplan berupa tunas yang tumbuh dari *axillary buds* selama proses kultur primer.

Multiplikasi dilaksanakan melalui pemisahan masing-masing jenis eksplan pada setiap akhir periode kultur dan kemudian dikulturkan kembali pada media yang sesuai. Tahapan ini dapat dilakukan secara berulang-ulang, yang ditujukan untuk memperbanyak jumlah tanaman. Umumnya setiap tahap multiplikasi memerlukan waktu 3 – 4 minggu.

Fase 3 : Pengkondisian tunas (*hardening*)

Hardening atau pengkondisian tunas dilakukan untuk menguatkan daun/tunas sebelum sampai pada tahap induksi perakaran. Bahan tanam pada fase ini adalah tunas yang berasal dari proses multiplikasi. *Hardening* pada tanaman karet asal *microcutting* dilakukan dengan mentransfer tunas secara utuh ke dalam media yang mengandung arang aktif di dalam suatu 'Jar' atau botol. Umumnya setiap botol dapat memuat sekitar 10 tunas dan kemudian aerasi diberikan secara teratur, dapat secara aktif ataupun secara pasif. Untuk pengkondisian tunas diperlukan waktu antara 3 – 4 minggu.

Fase 4 : Induksi dan inisiasi perakaran

Bahan tanam adalah tunas yang telah melalui tahap *hardening*. Fase ini terdiri atas 2 tahap, yaitu induksi perakaran yang bertujuan untuk merangsang pembentukan akar serta inisiasi perakaran yang bertujuan untuk merangsang

Peluang aplikasi stek mikro untuk memperbanyak batang bawah klonal pada tanaman karet

permanjangan akar. Induksi perakaran dilaksanakan dengan cara merendam bagian ujung tunas yang telah dipotong miring pada media cair yang mengandung zat pengatur tumbuh dan kemudian kultur cair tersebut disimpan dalam kondisi tanpa cahaya selama 3 hari. Inisiasi perakaran dilakukan dalam media padat yang tidak mengandung zat pengatur tumbuh dengan pencahayaan normal, selama 10 hari. Pada tahap akhir fase ini, tunas biasanya belum membentuk perakaran namun kalus telah terbentuk di bagian basal. Tanaman dengan kondisi demikian telah siap untuk diaklimatisasi, dimana perakaran umumnya akan terbentuk selama proses aklimatisasi tersebut.

Fase 5 : Aklimatisasi dan Pembibitan

Secara keseluruhan, proses aklimatisasi di rumah kaca terdiri atas 5 tahap yang berkesinambungan, yang dimulai dari tahap pembentukan perakaran, *hardening* (pengkondisian tunas), pra-naungan, naungan dan pembibitan. Dua tahap pertama memerlukan penutup dan pemberian pengkabutan untuk menjaga agar kelembaban tetap tinggi, sedangkan tiga tahap berikutnya tanpa penutup dan tanpa pengkabutan.

Pada proses aklimatisasi, fungisida mulai diberikan secara teratur dengan dosis yang disesuaikan dengan tahap perkembangan tanaman untuk menghindari serangan jamur. Di samping itu, pemupukan juga Dari ke lima tahapan tersebut, pemupukan tidak diberikan hanya pada tahap pembentukan perakaran, namun pemupukan mulai diberikan pada tahap *hardening* dan seterusnya dengan dosis yang disesuaikan. Untuk setiap tahapan tersebut diperlukan waktu tertentu, dimana tahap pembentukan perakaran memerlukan waktu 3 minggu, *hardening* 2 minggu, pra-naungan 2 minggu, naungan antara 2 – 4 minggu, dan pembibitan antara 3 – 12 bulan.

PERKEMBANGAN APLIKASI TEKNOLOGI MICROCUTTING

Aplikasi teknologi *microcutting* memerlukan beberapa aktivitas penelitian sebelum teknologi tersebut dapat digunakan untuk produksi batang bawah klonal tanaman karet secara komersil. Aktivitas tersebut adalah :

1. Seleksi tanaman karet *seedling* (genotipe) untuk sumber eksplan (*mother plant*).
2. Adaptasi teknologi *microcutting* untuk lingkungan dan bahan tanam lokal.
3. Seleksi genotipe yang responsif terhadap lingkungan kultur *in vitro*.
4. Seleksi genotipe yang sesuai untuk diokulasikan dengan berbagai klon batang atas.

Dari ke-4 aktivitas tersebut di atas, 3 di antaranya sedang dilaksanakan dan hasil yang dicapai diuraikan berikut ini.

1. Seleksi tanaman karet seedling untuk sumber eksplan (*mother plant*)

Selama lebih dari satu abad, pemuliaan tanaman karet ditujukan untuk menghasilkan klon batang atas dengan karakter yang diinginkan. Selama kurun waktu tersebut telah dihasilkan berbagai klon batang atas dan sebagian besar di antaranya memiliki karakter yang baik sehubungan dengan produksi lateks, ketebalan kulit batang, jumlah pembuluh lateks, bentuk tajuk, serta toleransi terhadap berbagai penyakit utama pada daun dan batang karet. Kriteria yang dijadikan dasar untuk seleksi batang atas tersebut tidak sepenuhnya sesuai untuk batang bawah sehingga klon batang atas yang tersedia saat ini belum tentu merupakan kandidat yang baik untuk batang bawah.

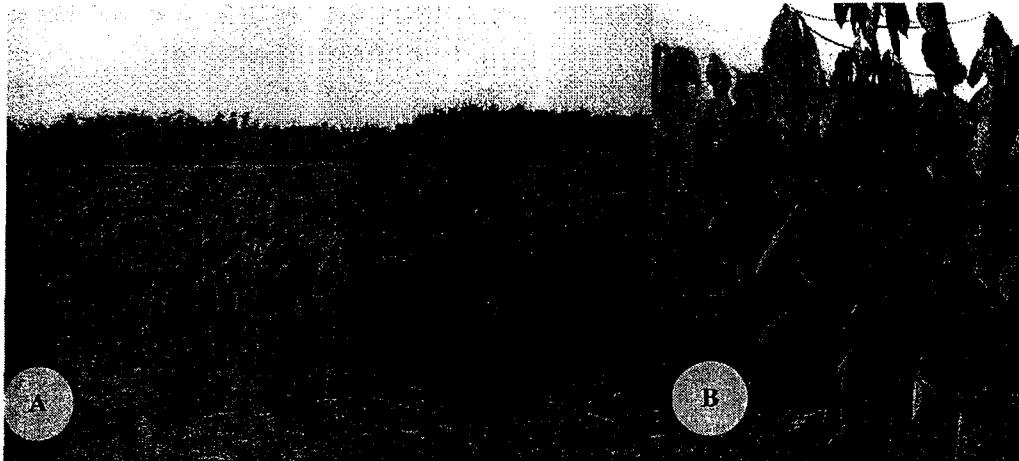
Hibrid dari berbagai tetua yang berbeda dianggap merupakan sumber yang baik untuk memilih genotipe yang sesuai sebagai batang bawah. Oleh karena itu kerjasama penelitian ini dimulai dengan melakukan seleksi terhadap suatu populasi tanaman karet asal biji dari beberapa klon karet yang tersedia. Seleksi tahap awal lebih diarahkan kepada penampakan morfologi tanaman, namun seleksi pada masa yang akan datang dengan mempertimbangkan juga beberapa faktor penting lainnya seperti resistensi terhadap penyakit utama pada perakaran tanaman karet serta toleransi terhadap kekeringan.

Berdasarkan pemikiran tersebut telah dilakukan seleksi awal pada luasan areal sekitar 2 hektar di Kebun Percobaan Balai Penelitian Sungei Putih, Pusat Penelitian Karet. Areal tersebut ditanami dengan biji karet yang berasal dari 3 klon, yaitu klon GT 1, RRIM 600 dan PB 260, yang umum digunakan sebagai batang bawah. Jumlah seluruh tanaman adalah sekitar 43.000 tanaman (Gambar 1A) dan dari jumlah tersebut telah diseleksi sebanyak 100 genotipe tanaman terbaik atau sekitar 0,20 % dari keseluruhan tanaman yang ada. Seleksi dilakukan pada saat tanaman berumur sekitar 5 bulan, berdasarkan penampakan morfologi tanaman, tinggi tanaman dan diameter batang (Gambar 1B).

Pada tahap awal dipilih tanaman yang vigor serta tinggi batang minimal adalah 120 cm. Semua tanaman yang memenuhi kriteria tersebut kemudian diseleksi lebih lanjut berdasarkan diameter batang sehingga pada akhirnya terseleksi sebanyak 100 genotipe tanaman yang memiliki diameter antara 1,30 cm – 1,85 cm.

Untuk menyiapkan bahan tanam yang cukup dalam aplikasi teknologi *microcutting*, sebanyak 100 genotipe tanaman karet yang telah diseleksi tersebut diperbanyak atau dibuat duplikatnya dengan cara mengokulasikan mata tunas yang berasal dari masing-masing genotipe pada batang bawah konvensional, berupa tanaman asal biji. Teknik okulasi yang digunakan adalah okulasi hijau (*Pre-green budding technique*) (Gambar 2 A) dan pada tahap ini dibuat sebanyak 10 duplikat tanaman untuk setiap genotipe terpilih.

Peluang aplikasi stek mikro untuk perbanyakan batang bawah klonal pada tanaman karet



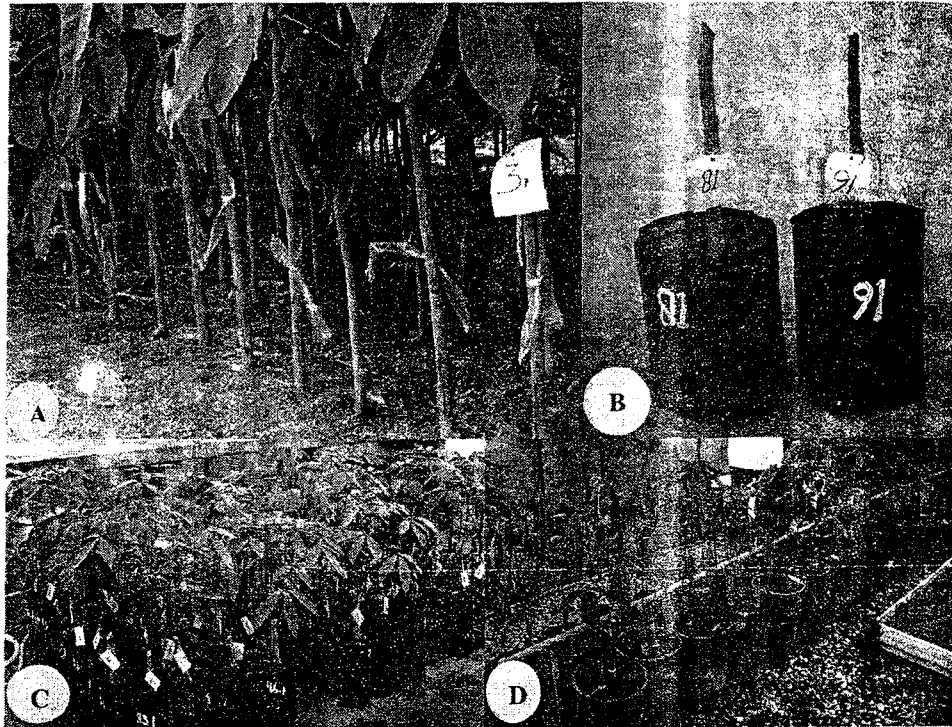
Gambar 1. Tanaman karet asal biji klon GT 1, RRIM 600 dan PB 260
(A) Tanaman umur 5 bulan, (B)-Contoh tanaman terseleksi

Sekitar 6 minggu setelah pelaksanaan okulasi, setiap tanaman yang berhasil di okulasi (Gambar 2 A) dipotong sehingga menghasilkan stum (bahan tanam karet) (Gambar 2 B). Sebanyak 3 duplikat stum dari masing-masing genotipe (300 tanaman) ditanam di rumah kaca BPBPI di Bogor (Gambar 2 C), 1 duplikat (100 tanaman) ditanam di rumah kaca CIRAD-Montpellier (Perancis) (Gambar 2 D) dan 6 duplikat (600 tanaman) ditanam di rumah kaca Balai Penelitian Sungei Putih, sehingga jumlah total adalah 1000 tanaman. Di samping itu, tanaman induk (*mother plants*) dipelihara di Balai Penelitian Sungei Putih.

Keseluruhan bahan tanam tersebut dipelihara di rumah kaca dan dapat digunakan sebagai sumber eksplan apabila minimal telah memiliki satu payung daun, dan masing-masing daun telah tumbuh sempurna. Akan tetapi untuk memperoleh jumlah eksplan yang cukup, umumnya digunakan bahan tanam yang telah memiliki dua payung daun.

2. Adaptasi teknologi *microcutting* untuk lingkungan dan bahan tanam lokal

Aplikasi teknologi *microcutting* untuk perbanyakan klonal tanaman karet memungkinkan apabila beberapa masalah utama dapat diatasi. Masalah tersebut antara lain adalah tingginya tingkat kontaminasi di daerah beriklim tropis seperti Indonesia, baik pada tahap kultur primer (*primary culture*) maupun tahap multiplikasi serta tingginya tingkat kematian plantlet dalam proses aklimatisasi sehingga sulit memperoleh bahan tanam asal *microcutting* di pembibitan.



Gambar 2. Duplikasi bahan tanam karet dari 100 genotipe terpilih. (A) – Tanaman pada tahap 3-4 minggu setelah okulasi. (B) – Bahan tanam karet berupa stum pada saat awal penanaman. (C) – Bahan tanam karet setelah umur 2 bulan (BPBPI-Bogor). (D) – Bahan tanam karet setelah umur 3 bulan (CIRAD-Montpellier-Perancis)

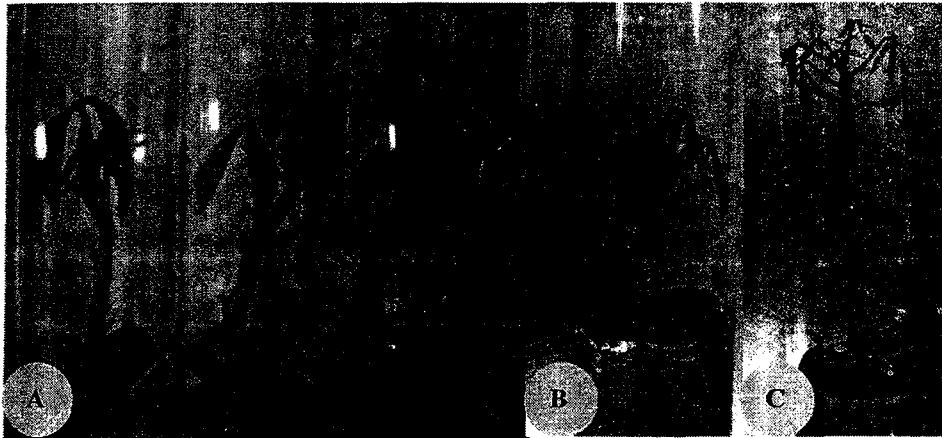
Upaya untuk menekan tingkat kontaminasi pada kultur primer memerlukan pengaturan dan pemeliharaan yang intensif terhadap tanaman sumber eksplan di rumah kaca. Menurut Enjalric *et al.* (1988), kontrol kondisi aseptik pada kultur primer di daerah tropis dapat dilakukan melalui beberapa upaya, seperti meminimalkan kontak langsung tanaman induk (sumber eksplan) dengan lingkungan luar rumah kaca serta menyeleksi eksplan berdasarkan umur, posisi dan ukurannya pada tanaman induk. Di samping itu, pemberian fungisida secara teratur juga merupakan salah satu cara untuk menekan tingkat kontaminasi.

Dengan memperhatikan persyaratan kondisi seperti tersebut di atas, telah dilakukan kultur primer (*Initial/Primary Culture*) terhadap 79 genotipe dari 100 genotipe tanaman karet terseleksi dalam rangka evaluasi tingkat kontaminasi dan mengamati pertumbuhan eksplan. Dari masing-masing genotipe digunakan 7-41 eksplan, tergantung jumlah mata tunas yang diperoleh dari setiap genotipe sehingga jumlah keseluruhan eksplan pada kultur primer adalah 1425. Dari jumlah tersebut, sebanyak 583 eksplan (41%) terkontaminasi, 184 eksplan (13%) mati, dan 658 eksplan (46%) sehat (Tabel 1).

Jumlah dan panjang tunas yang terbentuk pada fase kultur primer bervariasi, mulai dari 1 tunas sampai 3 tunas (majemuk) dengan panjang tunas antara 2-8 cm (Gambar 3).

Tabel 1. Kondisi eksplan pada kultur primer

Kultur primer	Eksplan	%
Kontaminasi	583	40,9
Mati	184	12,9
Sehat	658	46,2



Gambar 3. Tunas yang terbentuk pada kultur primer. (A) Tunas tunggal, (B) Tunas majemuk, (C) Tunas tunggal dan panjang

Eksplan yang sehat dan menunjukkan pertumbuhan yang baik dalam kultur primer selanjutnya memasuki tahap multiplikasi melalui subkultur pada media baru. Berbeda dengan tahap kultur primer dimana eksplan hanya berupa '*stock explant*' (S) yaitu eksplan original yang berasal dari tanaman di rumah kaca, eksplan yang diperoleh pada tahap multiplikasi ada 3 macam, yaitu '*stock explant*' (S), '*nodal explant*' (N) dan '*shoot explant*' (ST). Masing-masing eksplan akan berkembang lebih lanjut, dimana eksplan S akan membentuk tunas-tunas baru, eksplan N umumnya akan membentuk kalus terlebih dulu pada bagian yang bersentuhan dengan media dan selanjutnya membentuk tunas, sedangkan eksplan ST akan membentuk '*stock*' baru melalui pembentukan kalus pada bagian basal batang.

Melalui pemisahan eksplan S, N dan ST dari 658 tanaman sehat pada kultur primer diperoleh sebanyak 653 eksplan pada subkultur pertama tahap multiplikasi, masing-masing terdiri atas 433 eksplan S, 26 eksplan N dan 194 eksplan ST (Tabel 2). Tingkat kontaminasi keseluruhan eksplan tersebut

mencapai sekitar 14,4%, sedangkan tingkat kontaminasi masing-masing jenis eksplan, tertinggi pada eksplan N (34,6%) dan relatif sama antara eksplan S dan ST, yakni masing-masing 13,4% dan 13,9%) (Tabel 2).

Tabel 2. Tingkat kontaminasi berbagai eksplan pada tahap multiplikasi

Subkultur pertama	Eksplan	Kontaminasi	%
S1 (<i>Stock explant</i>)	433	58	13,4
N1 (<i>Nodal explant</i>)	26	9	34,6
ST1 (<i>Shoot explant</i>)	194	27	13,9
Total	653	94	14,4

Tingkat kontaminasi yang mencapai sekitar 41% pada tahap kultur primer dan 14% pada tahap multiplikasi masih relatif tinggi. Menurut Carron (komunikasi pribadi), maksimal tingkat kontaminasi pada kultur primer adalah 30% dan pada tahap multiplikasi adalah 5%. Dengan demikian masih diperlukan upaya untuk menekan tingkat kontaminasi sampai pada batas yang ditolerir, dan akan dilakukan dengan mempertimbangkan beberapa faktor seperti penggunaan bahan pencuci eksplan pada tahap kultur primer serta peningkatan sanitasi, baik pada di lingkungan rumah kaca maupun di lingkungan laboratorium.

Tunas yang diperoleh pada tahap multiplikasi dapat diperbanyak terus menerus melalui subkultur berulang selama periode waktu tertentu. Sebelum memasuki tahap induksi perakaran, tunas tersebut diberi perlakuan khusus terlebih dahulu untuk menguatkan daun (*hardening*). Kondisi tersebut dicapai melalui pemberian cahaya pada siang hari dan tanpa cahaya pada malam hari serta dengan mengurangi kelembaban dari waktu ke waktu. *Hardening* tanaman karet asal *microcutting* dilakukan dengan mentransfer tunas ke dalam media yang mengandung arang aktif di dalam suatu 'Jar' atau botol yang bisa memuat sekitar 10 tunas serta dengan memberikan aerasi secara aktif ataupun secara pasif.

Proses *hardening* yang telah dilaksanakan merupakan kombinasi antara penggunaan media yang mengandung arang aktif dengan aerasi secara aktif selama 2 x 15 menit per hari. Contoh 'Jar' yang digunakan di laboratorium CIRAD (Perancis) serta penampakan tanaman dalam proses *hardening* disajikan pada Gambar 4.

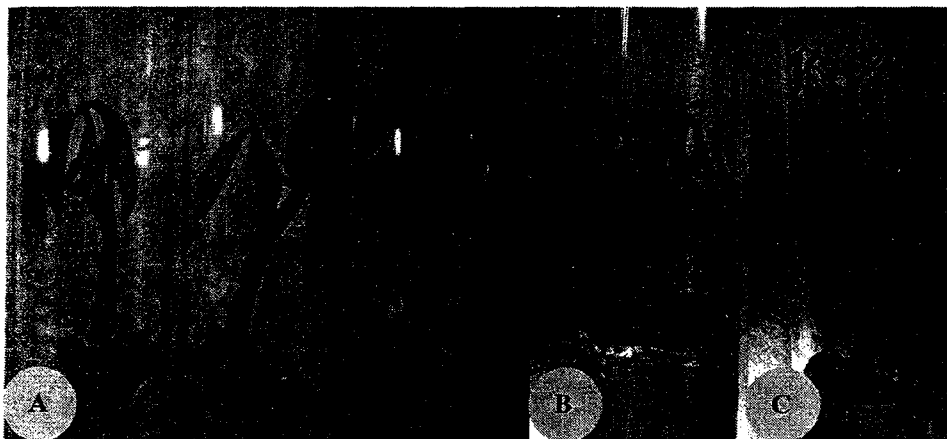
Pada tahap akhir proses *hardening* yang memerlukan waktu sekitar 3 - 4 minggu, daun akan terlihat lebih kuat dan lebih tebal sehingga sesuai untuk masuk ke fase berikutnya yakni induksi perakaran.

Induksi perakaran untuk tunas karet asal *microcutting* dilaksanakan dengan menggunakan media cair yang mengandung zat pengatur tumbuh IBA dan NAA. Perendaman bagian basal batang yang telah dipotong atau dihilangkan kalusnya dilakukan selama 3 hari dalam media tersebut untuk

Jumlah dan panjang tunas yang terbentuk pada fase kultur primer bervariasi, mulai dari 1 tunas sampai 3 tunas (majemuk) dengan panjang tunas antara 2-8 cm (Gambar 3).

Tabel 1. Kondisi eksplan pada kultur primer

Kultur primer	Eksplan	%
Kontaminasi	583	40,9
Mati	184	12,9
Sehat	658	46,2



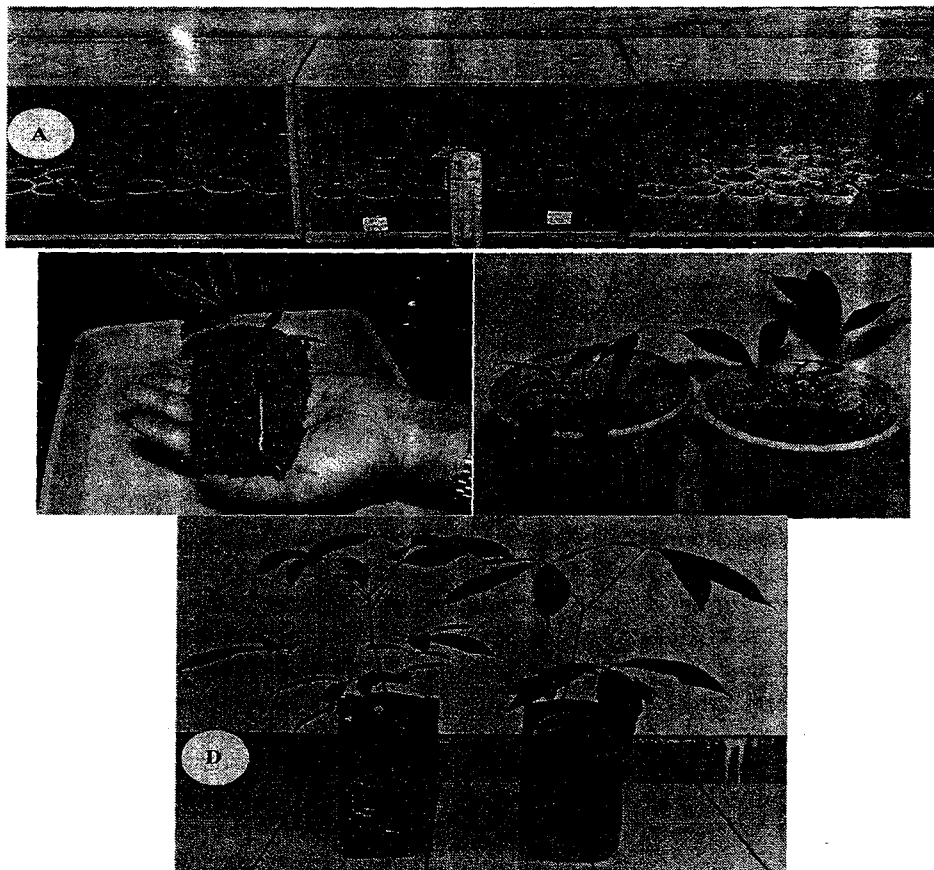
Gambar 3. Tunas yang terbentuk pada kultur primer. (A) Tunas tunggal, (B) Tunas majemuk, (C) Tunas tunggal dan panjang

Eksplan yang sehat dan menunjukkan pertumbuhan yang baik dalam kultur primer selanjutnya memasuki tahap multiplikasi melalui subkultur pada media baru. Berbeda dengan tahap kultur primer dimana eksplan hanya berupa '*stock explant*' (S) yaitu eksplan original yang berasal dari tanaman di rumah kaca, eksplan yang diperoleh pada tahap multiplikasi ada 3 macam, yaitu '*stock explant*' (S), '*nodal explant*' (N) dan '*shoot explant*' (ST). Masing-masing eksplan akan berkembang lebih lanjut, dimana eksplan S akan membentuk tunas-tunas baru, eksplan N umumnya akan membentuk kalus terlebih dulu pada bagian yang bersentuhan dengan media dan selanjutnya membentuk tunas, sedangkan eksplan ST akan membentuk '*stock*' baru melalui pembentukan kalus pada bagian basal batang.

Melalui pemisahan eksplan S, N dan ST dari 658 tanaman sehat pada kultur primer diperoleh sebanyak 653 eksplan pada subkultur pertama tahap multiplikasi, masing-masing terdiri atas 433 eksplan S, 26 eksplan N dan 194 eksplan ST (Tabel 2). Tingkat kontaminasi keseluruhan eksplan tersebut

Fase selanjutnya yaitu inisiasi perakaran dilaksanakan dalam media padat yang tidak mengandung zat pengatur tumbuh dan dilakukan selama 5–10 hari. Pada tahap akhir fase tersebut, biasanya perakaran belum terlihat pada masing-masing plantlet namun inisiasi kalus sudah dapat diamati. Pembentukan dan perkembangan perakaran umumnya terjadi selama proses aklimatisasi.

Aklimatisasi telah dilaksanakan terhadap 79 plantlet dalam media tumbuh yang mengandung cocopeat, tanah, pupuk kandang dan pasir. Aklimatisasi tahap awal dilaksanakan di dalam kotak kaca yang tertutup rapat di rumah kaca (Gambar 6 A), setelah 3 minggu akar terbentuk pada sebagian besar plantlet (Gambar 6 B) dan kemudian tanaman dipindahkan ke pot dengan volume lebih besar (Gambar 6 C). Setelah 6 bulan tanaman asal *microcutting* tumbuh baik di pembibitan dan dapat diperlakukan sama seperti tanaman hasil perbanyakan konvensional (Gambar 6D).



Gambar 6. Fase aklimatisasi plantlet karet asal *microcutting*, (A) Plantlet dalam kotak kaca dengan bagian atas ditutup plastik, (B) Akar terbentuk setelah 3 minggu, (C) Penampakan plantlet setelah 3 minggu dalam media untuk aklimatisasi, (D) Tanaman karet asal *microcutting* di pembibitan

Secara garis besar, proses aklimatisasi terdiri atas aklimatisasi di rumah kaca dan aklimatisasi di pembibitan, dan masing-masing terdiri atas beberapa tahapan. Setiap tahapan memerlukan kondisi yang berbeda. Inisiasi perakaran memerlukan kelembaban tinggi sehingga kontainer untuk penyimpanan plantlet biasanya tertutup rapat. Sedangkan perlakuan pemupukan tidak diperlukan pada tahap ini. Pada tahap hardening, kelembaban tinggi masih diperlukan, namun secara bertahap penutup kontainer bisa dibuka untuk menyesuaikan dengan lingkungan di rumah kaca. Di samping itu perlakuan pemupukan mulai diberikan ke setiap tanaman.

Aklimatisasi di pembibitan dilaksanakan dengan memberikan sinar matahari secara tidak langsung yaitu dengan meletakkan tanaman di bawah naungan pohon. Pada tahap lanjut pemeliharaan tanaman/bibit sama seperti pemeliharaan bibit secara konvensional. Kedua tahap aklimatisasi di pembibitan tersebut memerlukan pemupukan secara teratur untuk mendapatkan kondisi pertumbuhan yang optimal. Data jumlah plantlet serta kondisi plantlet pada setiap tahap dalam aklimatisasi disajikan dalam Tabel 3.

Tabel 3. Kondisi plantlet karet asal perbanyakan *microcutting* pada beberapa tahap aklimatisasi di rumah kaca dan pembibitan

Jumlah plantlet	Kotak kaca		Sungkup plastik		Pembibitan	
	Mati	Hidup	Mati	Hidup	Mati	Hidup
79	9 (11,4)	70 (88,6)	16 (22,9)	54 (77,1)	17 (31,5)	37 (68,5)

Pemeliharaan plantlet dalam kotak kaca dilaksanakan dalam kondisi kelembaban tinggi, dimana kotak kaca sepenuhnya tertutup rapat. Akan tetapi setelah dipindah ke sungkup plastik secara bertahap sungkup dibuka dalam jangka waktu tertentu dan di pembibitan pemeliharaan dilakukan sama seperti pemeliharaan bibit konvensional.

3. Seleksi genotipe yang responsif terhadap lingkungan kultur *in vitro*

Dari penelitian yang telah dilakukan oleh Cirad diketahui bahwa respon setiap genotipe/klon terhadap lingkungan kultur *in vitro* sangat bervariasi. Beberapa genotipe/klon berespon baik sehingga tingkat pertumbuhan di dalam kultur tersebut tinggi, namun genotipe/klon tertentu kurang responsif sehingga tumbuh sangat lambat atau bahkan tidak tumbuh. Berdasarkan hal tersebut di atas, diperlukan seleksi pada tahap awal untuk menentukan genotipe yang akan dijadikan sebagai sumber eksplan di dalam aplikasi teknologi *microcutting*.

Saat ini seleksi sedang dilakukan terhadap 100 genotipe tanaman karet terpilih yang telah diperoleh pada tahap awal penelitian. Seleksi dilakukan

berdasarkan jumlah eksplan yang sehat selama fase kultur primer dan jumlah tunas yang diperoleh pada subkultur pertama. Data sementara menunjukkan 12 genotipe menghasilkan tunas 50% atau lebih (Tabel 4).

Tabel 4. Persentase pembentukan tunas beberapa genotipe tanaman karet melalui teknologi *microcutting*

Genotipe	Jumlah eksplan awal	Eksplan sehat (%)	Pembentukan tunas(%)
5	25	40,0	80,0
18	17	70,6	50,0
22	17	47,1	87,5
38	7	57,1	50,0
47	10	40,0	50,0
63	14	57,1	62,5
70	12	50,0	83,3
77	18	50,0	55,6
83	10	60,0	50,0
91	24	66,7	50,0
97	9	66,7	66,7
100	24	54,2	53,8

Proses seleksi genotipe yang responsif terhadap perlakuan kultur masih berlangsung sampai saat ini, bertujuan untuk menyeleksi sekitar 50 genotipe yang akan dikembangkan untuk berbagai pengujian di rumah kaca dan lapang. Dari 50 genotipe tersebut akan diseleksi 10 genotipe terbaik untuk dikembangkan sebagai sumber batang bawah klonal.

KESIMPULAN

Penyediaan batang bawah klonal tanaman karet terasa semakin diperlukan sehubungan dengan keterbatasan yang ditemui di lapang, baik dari segi ketersediaan maupun dari segi kualitas batang bawah yang ada. Di antara teknik kultur *in vitro*, teknologi *microcutting* yang dikembangkan oleh CIRAD untuk tanaman karet berpeluang dimanfaatkan karena setiap tahapan prosedur telah dipahami. Melalui teknologi tersebut dapat diperoleh bahan tanam karet klonal yang memiliki sistem perakaran menyerupai perakaran tanaman *seedling* sehingga sesuai untuk digunakan dalam perbanyakan batang bawah klonal.

Untuk mengimplementasikan teknologi *microcutting* dalam perbanyakan batang bawah klonal saat ini dilakukan adaptasi berdasarkan bahan tanam dan kondisi lingkungan di Indonesia. Hasil sementara menunjukkan bahwa teknologi tersebut sangat layak untuk diaplikasikan. Meskipun tingkat kontaminasi relatif masih tinggi dibandingkan dengan yang direkomendasikan, namun dari bahan yang tidak terkontaminasi multiplikasi dapat dilakukan terus menerus. Adaptasi terhadap fase-fase selanjutnya seperti

hardening, induksi perakaran serta aklimatisasi memberikan hasil yang baik. Seleksi genotipe karet telah menghasilkan 12 genotipe yang responsif terhadap perlakuan kultur sehingga untuk selanjutnya genotipe tersebut dapat diperbanyak melalui aplikasi rutin untuk mendapatkan bahan tanam asal *microcutting* yang akan digunakan untuk pengujian okulasi dengan klon batang atas.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas B.S., S. Ginting. 1981. Influence of rootstock and scion on girth increment in rubber trees. *Buletin Balai Penelitian Perkebunan Medan* 12: 145-152.
- Azwar R, I. Suhendry. 1998. Kemajuan pemuliaan karet dan dampaknya terhadap peningkatan produktivitas. *Pros. Lokakarya Pemuliaan Karet 1998 dan Diskusi Nas. Prospek Karet Alam Abad 21*; Medan, 8 - 9 Desember. Medan : Puslit Karet.
- Azwar R, Aidi-Daslin, I. Suhendry, S. Woelan. 2000. Quantifying genetical and environmental factors in determining rubber crop productivity. *Proc Ind Rubb Conf and IRRDB Symp*; Bogor, 12-14 Sept 2000. Bogor : Ind Rubb Res Inst.
- Buttery RB. 1961. Investigation into the relationship between stock and scion in *Hevea*. *Journal of the Rubber Research Institute of Malaya*, 17:46-76.
- Carron MP, F. Enjalric F. 1983. Perspectives du microbouturage de l'*Hevea brasiliensis*. *Caoutchoucs et plastiques*, 627/628: 65-68.
- Carron MP., L. Lardet, BG. Dea BG. 1998. *Hevea* micropropagation somatic embryogenesis. *Plantation Recherche, Development* 5(3): 187-194.
- Carron MP., L. Lardet, A. Leconte, C. Boko, BG. Dea BG and J. Keli. 2003. Field growth rubber yield of *Hevea brasiliensis* (Muel. Arg.) from budded versus vitro micropropagated plant from clone IRCA 18. *Proc 1st IS on Accl. & Estab Microprop. Plants*. Eds : AS Economou & PE Read. Acta Hort 616, ISHS.2003.
- Carron MP., Y. Le Roux. J. Tison, BG. Dea, V. Caussanel, J. Clair, J. Keli. 2000. Compared root system architectures in seedlings and in vitro plantlets of *Hevea brasiliensis*, in the initial years of growth in the field. *Plant & Soil*, 223 (1/2): 73 - 85.
- Enjalric F., MP. Carron. 1982. Microbouturage in vitro de jeunes plants d'*Hevea brasiliensis*. C. R. Acad. Sc. Paris, Serie III: 259-264.
- Enjalric F., MP. Carron, L. Lardet . 1988. Contamination of primary cultures in tropical areas: The case of *Hevea brasiliensis*. *Acta Horticulturae* 225: 57-65.

- Lardet L. M. Bes, F. Enjalric F, MP. Carron. 1994. Mineral imbalance in *Hevea brasiliensis* microcutting: relation with in vitro multiplication and acclimatization. *J. Plant Nutrit.* 17(12): 2135-2150.
- Madjid A. 1974. Bahan tanam karet unggul untuk peremajaan. *Menara Perkebunan* 42(5) : 267-269.
- Ng AP, Ho CY, Sultan MO, Ooi CB, Lew HL, Yoon PK. 1982. Influence of six rootstock on growth and yield of six scion clones of *Hevea brasiliensis*, *Proc. of the Rubber Research Institute of Malaysia Planters' Conference*, Kuala Lumpur 1981: 134-151.
- Tan H. 1995. Variability of cuttings and buddings in three *Hevea* cultivars. *J. Natural Rubber Res.* 10: 1-7.
- Trigiano RN., DJ. Gray. 1999. *Plant Tissue Concepts and Laboratory procedures*, 2nd edition, CRC Press: 87-96; 119-124.
- Webster CC. 1989. *Propagation, planting and pruning*. In : Webster CC, Baulkwill WJ, editors. *Rubber. Singapore* : Longman Singapore Publishers (Pte) Ltd.
- Woelan S., R. Azwar R, I. Suhendry, Aidi-Daslin, and M/ Lasminingsih. 2000. Agronomic characteristics of IRR series rubber clones. *Proc. Indonesian Rubb. Conf. and IRRDB Symp*; Bogor, 12-14 Sept 2000. Bogor : Ind Rubb Res Inst.

Ci-après le texte du draft qui correspond à cette communication.
Je propose de le garder pour deux raisons :

- présente une traduction en anglais du titre et du résumé;
- présente des photos couleurs qui ne sont que mal reproduites et/ou identifiables sur la communication publiée.

Marie-Christine Lambert
Le 8 juillet 2009

Peluang Aplikasi Stek Mikro (*Microcutting*) untuk Perbanyakan Batang Bawah Klonal Pada Tanaman Karet

**Nurhaimi-Haris^{1)*}, Siswanto¹⁾, Sumarmadji²⁾, Hananto Hadi³⁾,
Radite Tistama²⁾ dan Marc-Philippe Carron⁴⁾**

¹⁾ Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan, Jalan Taman Kencana 1, Bogor 16151

²⁾ Balai Penelitian Sungei Putih, PO Box 1415, Medan 20001

³⁾ Balai Penelitian Getas, PO Box 804, Salatiga 50702

⁴⁾ French Agricultural Research Centre for International Development (CIRAD), Montpellier, Perancis

Ringkasan

Perbanyakan tanaman karet (*Hevea brasiliensis*, Muell. Arg.) melalui teknik okulasi dengan cara menempelkan mata tunas batang atas ke batang bawah masih merupakan cara perbanyakan klonal yang umum digunakan. Batang atas dengan karakter yang baik dan sesuai diperoleh melalui program pemuliaan dan kemudian diperbanyak secara klonal. Akan tetapi batang bawah umumnya menggunakan tanaman asal biji disebabkan belum ditemukan teknik perbanyakan klonal yang sesuai. Penggunaan tanaman asal biji sebagai batang bawah memiliki kelemahan, antara lain ketersediaan biji tidak mencukupi tergantung musim serta jenis klon sebagai sumber biji. Di samping itu batang bawah asal biji dapat menyebabkan ketidak seragaman serta adanya masalah inkompatibilitas dengan batang atas, yang dapat menurunkan produksi tanaman. Perbanyakan klonal tanaman karet melalui teknologi *microcutting* yang berbasis kultur *in vitro* dimulai di Perancis (CIRAD) sejak tahun 1980-an. Tanaman yang dihasilkan telah sampai pada tahap pengujian lapang dan terbukti memiliki akar tunggang dan akar lateral yang baik. Selama dua tahun pertama penyesuaian, produksinya 20% lebih tinggi (kg karet kering/pohon) dibandingkan dengan tanaman klon yang diperbanyak melalui okulasi. Dengan demikian teknologi tersebut memiliki peluang aplikasi, baik untuk perbanyakan klonal batang bawah maupun batang atas. Semenjak tahun 2005 kerjasama penelitian telah dimulai antara Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia (BPBPI), Pusat Penelitian Karet dan CIRAD (Perancis) yang bertujuan untuk adaptasi dan implementasi teknologi *microcutting* sesuai lingkungan dan bahan tanam yang terdapat di Indonesia. Peluang aplikasi memungkinkan apabila beberapa masalah utama dapat diatasi. Masalah tersebut yaitu tingginya tingkat kontaminasi, terutama pada tahap kultur primer (*primary culture*) di daerah beriklim tropis seperti Indonesia, adanya perbedaan respon tanaman sebagai sumber eksplan pada lingkungan kultur, serta tingginya tingkat kematian plantlet dalam proses aklimatisasi. Beberapa masalah tersebut telah diupayakan solusinya melalui adaptasi teknologi dalam rangka kerjasama penelitian. Tulisan ini merupakan rangkuman dari kemajuan penelitian *microcutting* tanaman karet secara umum serta hasil yang telah dicapai dalam kerjasama penelitian untuk membuka peluang penggunaannya dalam perbanyakan batang bawah klonal tanaman karet.

[**Kata kunci:** *Hevea brasiliensis*, karet, *microcutting*, multiplikasi, batang bawah]

Summary

Possibility of microcutting application for propagation of clonal rootstocks on rubber tree

Clonal propagation with budding system through grafting buds from scion onto rootstocks is the usual way for rubber (*Hevea brasiliensis*, Muell. Arg.) propagation. Scions with good characters were obtained through breeding program and then propagated clonally, while rootstocks usually in form of seedling material due to the lack of an appropriate multiplication technique. In fact, the used of seedling as a rootstock, face on some constrains such as limited seeds due to seed season and suitable clone as a source of seeds. Besides, seedling will produced un-uniform rootstock which significantly influenced production loss as a cause of growth inferiority of scion as well as of incompatibility between scion and rootstock. Clonal propagation of rubber plant through microcutting technology which based on in vitro culture had been started at CIRAD (France) since 1980. Recently, CIRAD has completely mastered all process in rubber microcutting technique and proved the produced plants developed taproot and lateral root system in the field. In two first year tapping, the production of microcutting plants were 20% higher (kg dry rybber/tree) than those from conventional one. It seems that microcutting will be a new way to propagate clonal material of rubber plant. Since 2005, a research collaboration had been started by three parties, including Indonesian Biotechnology Research Institute for estate Crops (IBRIEC), Indonesian Rubber Research Institute (IRRI) and French Agricultural Research Centre for International Development (CIRAD). The aim of this collaboration is to adapt and to implement microcutting technology based on Indonesian environment and plant materials. The feasibility to implement microcutting technique depend on the succesful to overcome some constraint which usually face in this technique, such as high level of contamination especially in primary culture stage, difference response of plant materials to culture environment, and high level of death plant during acclimatization process. This paper summarizes some research progress on rubber microcutting and some results from collaborative research to show the possibility of their application in propagation of clonal rootstock in rubber plant.

[**Key words:** *Hevea brasiliensis*, rubber plant, *microcutting*, multiplication, clonal rootstock]

PENDAHULUAN

Permintaan bahan tanam karet untuk keperluan peremajaan serta pembukaan areal baru semakin meningkat belakangan ini. Hal tersebut dipicu oleh membaiknya harga karet di pasar dunia, mencapai 2,3 US dolar/kg karet kering, yakni meningkat hampir 4 kali lipat dibandingkan dengan harga di tahun 2003. Akan tetapi pemenuhan kebutuhan bahan tanam untuk keperluan tersebut sulit dicapai.

Sampai saat ini penyediaan bahan tanam karet klonal dengan sistem okulasi melalui penempelan mata tunas batang atas (*scion*) ke batang bawah (*rootstock*) masih

merupakan cara propagasi terbaik pada tanaman karet. Batang atas dengan karakter yang diinginkan diperoleh melalui proses seleksi dalam program pemuliaan dan kemudian diperbanyak secara klonal melalui teknik okulasi, sedangkan batang bawah umumnya merupakan tanaman asal biji (*seedling*) disebabkan belum ditemukan sistem perbanyakan klonal yang sesuai. Kelemahan utama penggunaan *seedling* sebagai batang bawah adalah ketersediaan biji tidak mencukupi karena tergantung musim dan jenis klon serta adanya variasi batang bawah. Di samping itu sering ditemukan inkompatibilitas batang bawah dengan klon batang atas sehingga kombinasi tersebut kurang mampu menampilkan potensi produksi dan karakter unggul lainnya secara maksimal (Buttery, 1961; Madjid, 1974; Abbas & Ginting, 1981; Ng *et al*, 1982). Oleh karena itu meskipun melalui program pemuliaan telah dihasilkan klon karet generasi ke empat dengan potensi produksi sekitar 3.500 kg/ha/tahun (Azwar & Suhendry, 1998; Azwar *et al*, 2000) dan dengan karakter sekunder yang baik (Woelan *et al*, 2000), namun potensi tersebut tidak dapat ditampilkan secara optimal.

Bahan tanam yang seragam dan tersedia tanpa tergantung musim dapat diperoleh melalui perbanyakan klonal. Untuk itu teknik mikropropagasi berbasis kultur *in vitro* aseptik dapat dilakukan melalui proses organogenesis, embriogenesis somatik dan *microcutting* (Trigiano & Gray, 1999), dimana dua metode terakhir telah berhasil baik pada tanaman karet (Carron *et al*. 1998; Lardet *et al*. 1994). Keberhasilan teknologi *microcutting* dan embriogenesis somatik membuka peluang penerapannya dalam perbanyakan klonal tanaman karet. Melalui teknologi *microcutting* batang bawah klonal seragam dengan kualitas baik dan tidak tergantung musim serta sesuai dengan kondisi lingkungan pertanaman karet di Indonesia dapat dihasilkan. Di samping itu teknik tersebut membuka peluang untuk menyeleksi genotipe batang bawah yang vigor, tahan kekeringan serta toleran terhadap berbagai penyakit perakaran pada tanaman karet. Cara tersebut juga dapat dimanfaatkan untuk perbanyakan non-konvensional klon batang atas unggul sehingga akan diperoleh klon utuh yang didukung oleh perakarannya sendiri.

Berdasarkan hal tersebut di atas sejak pertengahan tahun 2005, kerjasama penelitian telah dimulai antara Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia (BPBPI) dan Pusat Penelitian Karet, yakni dua institusi penelitian di bawah koordinasi Lembaga Riset Perkebunan Indonesia (LRPI), dengan *French Agricultural Research Center for International Development* (CIRAD), Perancis. Kerjasama tersebut pada tahap

awal bertujuan untuk mengimplementasikan teknologi *microcutting* dalam perbanyakan batang bawah klonal tanaman karet, dan pada tahap lanjut dalam perbanyakan klon utuh bahan tanam karet unggul. Tulisan ini merupakan rangkuman dari kemajuan penelitian *microcutting* tanaman karet secara umum serta hasil yang telah dicapai dalam rangka kerjasama penelitian tersebut untuk membuka peluang penggunaannya dalam perbanyakan batang bawah klonal tanaman karet.

PERKEMBANGAN TEKNOLOGI *MICROCUTTING* DALAM PERBANYAKAN KLONAL TANAMAN KARET

Dari berbagai cara perbanyakan tanaman secara klonal, setek (*cutting*) merupakan cara yang relatif sederhana dibandingkan dengan teknik lainnya seperti penyambungan (*grafting*) atau penempelan mata tunas (*budding*). Keistimewaan setek selain merupakan perbanyakan vegetatif adalah bahan tanam yang dihasilkan merupakan klon utuh (*whole clone*) karena tidak memerlukan batang bawah seperti pada proses penyambungan atau penempelan. Bahan tanam yang diperoleh melalui setek jauh lebih seragam disebabkan tidak terdapat pengaruh batang bawah yang umumnya berasal dari biji. Akan tetapi aplikasi setek pada tanaman karet dewasa terkendala karena tingkat keberhasilan rendah serta kesulitan mendapatkan akar tunggang, sehingga tanaman rentan terhadap kekeringan dan angin (Webster, 1989). Oleh karena itu cara perbanyakan yang digunakan adalah melalui okulasi atau *budding* yaitu dengan menempelkan mata tunas batang atas ke batang bawah sehingga bersifat semi vegetatif karena masih memerlukan batang bawah untuk mendukung klon batang atas.

Perbanyakan klonal tanaman karet melalui kultur *in vitro* untuk mendapatkan klon utuh, baik melalui teknologi *microcutting* maupun embriogenesis somatik telah dirintis sejak tahun 1980-an oleh tim peneliti dari CIRAD-Perancis (Enjalric & Carron, 1982). Teknologi *microcutting* dapat dimanfaatkan untuk perbanyakan klon-klon terseleksi dan dilaporkan memiliki keunggulan karena berpeluang untuk meningkatkan keseragaman serta produktivitas tanaman (Carron & Enjalric, 1983). Teknologi tersebut merupakan salah satu bentuk spesifik dari organogenesis karena dapat menghasilkan tunas (*shoots*) dari jaringan meristem yang terdapat pada sumber bahan tanam (eksplan).

Pada awal pelaksanaannya hambatan utama keberhasilan teknologi *microcutting* berkaitan dengan kemampuan untuk menekan tingkat kontaminasi pada fase kultur primer, dimana eksplan pada fase tersebut berasal dari bahan tanam yang dipelihara di rumah kaca. Kesulitan dilaporkan semakin meningkat di daerah dengan kelembaban tinggi seperti Pantai Gading (Ivory Coast) dan Asia Tenggara (Enjalric *et al.* 1988), dimana tanaman karet banyak dibudidayakan. Daerah beriklim tropis dengan kelembaban tinggi tersebut sangat sesuai untuk pertumbuhan dan perkembangan kontaminan berupa jamur dan bakteri sehingga sering menjadi faktor pembatas utama untuk keberhasilan proses *microcutting*. Untuk menekan tingkat kontaminasi, pra-kondisi terhadap sumber eksplan atau tanaman induk (*mother plants*) di rumah kaca yang dikombinasikan dengan perlakuan disinfektan dan bahan antimikroba serta dengan menyeleksi eksplan pada tanaman induk, ternyata cukup efektif (Enjalric *et al.* 1988). Pemberian fungisida secara teratur terhadap tanaman induk juga merupakan salah satu cara untuk menekan tingkat kontaminasi.

Di samping itu, keberhasilan teknologi *microcutting* juga ditentukan oleh kesesuaian komposisi media tumbuh yang digunakan selama periode kultur. Ketidak-seimbangan unsur mineral pada tahap inisiasi, multiplikasi maupun aklimatisasi berpengaruh besar terhadap pertumbuhan dan perkembangan tunas. Lardet *et al.* (1994) melaporkan bahwa selama fase multiplikasi helaian daun pada tunas menjadi tipis dan tangkai daun berwarna kuning pucat serta terkadang muncul gejala nekrosis pada ujung daun. Umumnya tunas dengan gejala yang demikian gagal membentuk perakaran.

Lardet *et al.* (1994) melaporkan analisis terhadap tunas yang dihasilkan pada fase kultur primer menunjukkan bahwa kandungan P, K, Na, Cl dan Zn meningkat, sedangkan kandungan Ca, Mg, Fe dan Cu berkurang. Pada fase tersebut rasio N/P, N/K, Mg/P dan K/Na sangat rendah, sedangkan rasio K/Mg, K/P dan K/Ca sangat tinggi. Pada fase multiplikasi komposisi mineral pada tunas juga tidak seimbang dibandingkan dengan komposisi mineral pada tanaman induknya, dimana rasio N/P dilaporkan sangat rendah, rasio K/Ca sangat tinggi, sedangkan rasio K/Na cenderung normal. Selama fase perakaran dan aklimatisasi komposisi mineral cenderung kembali seimbang, namun tetap terjadi defisiensi pada beberapa nutrien.

Ketidak-seimbangan komposisi mineral selama fase kultur primer dan multiplikasi mengarah pada ketersediaan kandungan air di dalam sel. Beberapa nutrien seperti K dan Ca berperan langsung dalam regulasi status air di dalam sel tanaman, sedangkan defisiensi

Cu menyebabkan kematian jaringan meristem sehingga mengganggu perkembangan daun. Dengan demikian rasio K/Ca yang tinggi dan kandungan Cu yang rendah pada tunas kemungkinan besar berperan dalam munculnya gejala seperti nekrosis. Berdasarkan pengetahuan yang diperoleh pada setiap fase pertumbuhan kultur *in vitro* tim CIRAD telah memantapkan prosedur *microcutting* tanaman karet dengan komposisi media tumbuh yang disesuaikan untuk setiap tahapan kultur.

Dengan menggunakan klon IRCA 18 sebagai sumber eksplan, sepanjang tahun 1991 – 1992 telah dihasilkan sebanyak 10.000 plantlet, 89% di antaranya membentuk perakaran pada awal proses aklimatisasi (Carron *et al.*, 2000; 2003). Sebanyak 110 plantlet kemudian diteruskan untuk pengujian lapang. Selama 3 tahun pertama di lapangan dilaporkan bahwa pertumbuhan *vitroplant* asal *microcutting* tidak berbeda nyata dengan pertumbuhan tanaman okulasinya (kontrol). Hanya pada tahun ke-4 dan seterusnya laju pertumbuhan *vitroplant* lebih tinggi dibandingkan tanaman okulasi dan pada tahun ke-5 lingkar batangnya lebih tinggi 6%, yang diukur pada ketinggian 1 m di atas permukaan tanah. Pada 2 tahun pertama penyesuaian dilaporkan produksi pohon asal *microcutting* 20% lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman okulasinya. Di samping itu tanaman *microcutting* dewasa di lapang menunjukkan pertumbuhan yang seragam dan apabila diamati setiap tanaman asal *microcutting* memiliki bentuk konikal pada batang bagian bawah. Bentuk tersebut menunjukkan perbedaan dengan tanaman dewasa yang diperbanyak melalui okulasi, dimana pada daerah pertautan batang atas dan batang bawah terjadi pelebaran lingkaran batang.

Aplikasi teknologi *microcutting* tentunya memerlukan penyesuaian terhadap lingkungan dan bahan tanam yang digunakan sebagai sumber eksplan. Carron *et al.*, (2003) mengemukakan bahwa hasil penelitian yang telah dipublikasikan adalah spesifik untuk klon IRCA 18. Klon atau genotipe karet yang lain bisa saja memberikan respon berbeda terhadap perlakuan selama proses *microcutting*. Di samping itu, Tan (1995) juga mengemukakan bahwa efek metode propagasi sangat bervariasi tergantung genotipe yang digunakan. Oleh karena itu proses adaptasi umumnya diperlukan untuk klon atau genotipe yang berbeda.

PROSES TEKNOLOGI MICROCUTTING PADA TANAMAN KARET

Berdasarkan “*Technical Notes*” dari Cirad, produksi tanaman karet klonal melalui teknologi *microcutting* dilakukan melalui 5 fase, secara garis besar adalah sebagai berikut :

Fase 1 : *Kultur awal/kultur primer (Initial culture/Primary culture)*

Fase ini meliputi pemilihan bahan tanam, sterilisasi, dan pemisahan eksplan dari bahan tanam tersebut. Pada tahap ini bahan tanam sebagai sumber eksplan adalah tanaman *seedling* muda di rumah kaca yang telah memiliki dua unit lingkaran daun dengan tinggi sekitar 50 cm dari daerah pertautan okulasi dan daun telah tumbuh sempurna. Dalam hal ini eksplan adalah nodal yang memiliki mata tunas (*axillary buds*) yang terdapat disepanjang batang tanaman.

Pada fase ini sterilisasi merupakan tahapan penting yang perlu mendapat perhatian khusus karena sering menjadi faktor pembatas dalam keberhasilan aplikasi teknologi *microcutting*. Sterilisasi dilaksanakan hanya pada awal kultur primer dan dilakukan secara bertahap disebabkan bahan tanam sebagai sumber eksplan dipelihara di lingkungan rumah kaca yang tidak sepenuhnya bisa diupayakan steril.

Sebagai salah satu cara mikropropagasi yang merupakan bentuk khusus dari organogenesis, penerapan teknologi *microcutting* melibatkan pembentukan tunas dari jaringan meristem yakni *axillary buds*, yang umumnya memiliki dominansi apikal. Untuk itu dominansi tersebut perlu dihilangkan, umumnya dilakukan melalui perendaman eksplan selama beberapa jam dalam media cair yang mengandung zat pengatur tumbuh, sebelum eksplan tersebut dikulturkan pada media padat. Kultur primer memerlukan waktu antara 4 – 6 minggu.

Fase 2 : *Multiplikasi*

Fase multiplikasi dapat dibedakan atas multiplikasi awal, yang merupakan subkultur pertama setelah kultur primer, serta multiplikasi tahap lanjut yang merupakan subkultur kedua dan seterusnya. Pada fase multiplikasi awal, bahan tanam adalah eksplan dari tanaman *seedling* muda yang memasuki tahap akhir pada kultur primer. Dengan demikian eksplan dapat terdiri atas 3 macam, yakni : (i) ‘*stock explant*’ (S), yaitu eksplan awal pada kultur primer yang berasal dari rumah kaca, (ii) ‘*nodal explant*’ (N), yaitu eksplan yang diperoleh dari batang yang tumbuh selama kultur primer, dan (iii) ‘*shoots*’

(ST), yaitu eksplan berupa tunas yang tumbuh dari *axillary buds* selama proses kultur primer.

Multiplikasi dilaksanakan melalui pemisahan masing-masing jenis eksplan pada setiap akhir periode kultur dan kemudian dikulturkan kembali pada media yang sesuai. Tahapan ini dapat dilakukan secara berulang-ulang, yang ditujukan untuk memperbanyak jumlah tanaman. Umumnya setiap tahap multiplikasi memerlukan waktu 3 – 4 minggu.

Fase 3 : Pengkondisian tunas (*hardening*)

Hardening atau pengkondisian tunas dilakukan untuk menguatkan daun/tunas sebelum sampai pada tahap induksi perakaran. Bahan tanam pada fase ini adalah tunas yang berasal dari proses multiplikasi. *Hardening* pada tanaman karet asal *microcutting* dilakukan dengan mentransfer tunas secara utuh ke dalam media yang mengandung arang aktif di dalam suatu ‘Jar’ atau botol. Umumnya setiap botol dapat memuat sekitar 10 tunas dan kemudian aerasi diberikan secara teratur, dapat secara aktif ataupun secara pasif.

Untuk pengkondisian tunas diperlukan waktu antara 3 – 4 minggu.

Fase 4 : Induksi dan inisiasi perakaran

Bahan tanam adalah tunas yang telah melalui tahap *hardening*. Fase ini terdiri atas 2 tahap, yaitu induksi perakaran yang bertujuan untuk merangsang pembentukan akar serta inisiasi perakaran yang bertujuan untuk merangsang pemanjangan akar. Induksi perakaran dilaksanakan dengan cara merendam bagian ujung tunas yang telah dipotong miring pada media cair yang mengandung zat pengatur tumbuh dan kemudian kultur cair tersebut disimpan dalam kondisi tanpa cahaya selama 3 hari. Inisiasi perakaran dilakukan dalam media padat yang tidak mengandung zat pengatur tumbuh dengan pencahayaan normal, selama 10 hari. Pada tahap akhir fase ini, tunas biasanya belum membentuk perakaran namun kalus telah terbentuk di bagian basal. Tanaman dengan kondisi demikian telah siap untuk diaklimatisasi, dimana perakaran umumnya akan terbentuk selama proses aklimatisasi tersebut.

Fase 5 : Aklimatisasi dan Pembibitan

Secara keseluruhan, proses aklimatisasi di rumah kaca terdiri atas 5 tahap yang berkesinambungan, yang dimulai dari tahap pembentukan perakaran, *hardening* (pengkondisian tunas), pra-naungan, naungan dan pembibitan. Dua tahap pertama memerlukan penutup dan pemberian pengkabutan untuk menjaga agar kelembaban tetap tinggi, sedangkan tiga tahap berikutnya tanpa penutup dan tanpa pengkabutan.

Pada proses aklimatisasi, fungisida mulai diberikan secara teratur dengan dosis yang disesuaikan dengan tahap perkembangan tanaman untuk menghindari serangan jamur. Di samping itu, pemupukan juga Dari ke lima tahapan tersebut, pemupukan tidak diberikan hanya pada tahap pembentukan perakaran, namun pemupukan mulai diberikan pada tahap *hardening* dan seterusnya dengan dosis yang disesuaikan. Untuk setiap tahapan tersebut diperlukan waktu tertentu, dimana tahap pembentukan perakaran memerlukan waktu 3 minggu, *hardening* 2 minggu, pra-naungan 2 minggu, naungan antara 2 – 4 minggu, dan pembibitan antara 3 – 12 bulan.

PERKEMBANGAN APLIKASI TEKNOLOGI *MICROCUTTING* DALAM KERANGKA KERJASAMA PENELITIAN

Aplikasi teknologi *microcutting* memerlukan beberapa aktivitas penelitian sebelum teknologi tersebut dapat digunakan untuk produksi batang bawah klonal tanaman karet secara komersil. Aktivitas tersebut adalah :

1. Seleksi tanaman karet *seedling* (genotipe) untuk sumber eksplan (*mother plant*).
2. Adaptasi teknologi *microcutting* untuk lingkungan dan bahan tanam lokal.
3. Seleksi genotipe yang responsif terhadap lingkungan kultur *in vitro*.
4. Seleksi genotipe yang sesuai untuk diokulasikan dengan berbagai klon batang atas.

Dari ke-4 aktivitas tersebut di atas, 3 di antaranya sedang dilaksanakan dan hasil yang dicapai diuraikan berikut ini.

1. Seleksi tanaman karet *seedling* (genotipe) untuk sumber eksplan (*mother plant*)

Selama lebih dari satu abad, pemuliaan tanaman karet ditujukan untuk menghasilkan klon batang atas dengan karakter yang diinginkan. Selama kurun waktu

tersebut telah dihasilkan berbagai klon batang atas dan sebagian besar di antaranya memiliki karakter yang baik sehubungan dengan produksi lateks, ketebalan kulit batang, jumlah pembuluh lateks, bentuk tajuk, serta toleransi terhadap berbagai penyakit utama pada daun dan batang karet. Kriteria yang dijadikan dasar untuk seleksi batang atas tersebut tidak sepenuhnya sesuai untuk batang bawah sehingga klon batang atas yang tersedia saat ini belum tentu merupakan kandidat yang baik untuk batang bawah.

Hibrid dari berbagai tetua yang berbeda dianggap merupakan sumber yang baik untuk memilih genotipe yang sesuai sebagai batang bawah. Oleh karena itu kerjasama penelitian ini dimulai dengan melakukan seleksi terhadap suatu populasi tanaman karet asal biji dari beberapa klon karet yang tersedia. Seleksi tahap awal lebih diarahkan kepada penampakan morfologi tanaman, namun seleksi pada masa yang akan datang dengan mempertimbangkan juga beberapa faktor penting lainnya seperti resistensi terhadap penyakit utama pada perakaran tanaman karet serta toleransi terhadap kekeringan.

Berdasarkan pemikiran tersebut telah dilakukan seleksi awal pada luasan areal sekitar 2 hektar di Kebun Percobaan Balai Penelitian Sungei Putih, Pusat Penelitian Karet. Areal tersebut ditanami dengan biji karet yang berasal dari 3 klon, yaitu klon GT 1, RRIM 600 dan PB 260, yang umum digunakan sebagai batang bawah. Jumlah seluruh tanaman adalah sekitar 43.000 tanaman (Gambar 1A) dan dari jumlah tersebut telah diseleksi sebanyak 100 genotipe tanaman terbaik atau sekitar 0,20 % dari keseluruhan tanaman yang ada. Seleksi dilakukan pada saat tanaman berumur sekitar 5 bulan, berdasarkan penampakan morfologi tanaman, tinggi tanaman dan diameter batang (Gambar 1B).



Gambar 1. Tanaman karet asal biji klon GT 1, RRIM 600 dan PB 260.

(A)- Tanaman umur 5 bulan. (B)-Contoh tanaman terseleksi.

Pada tahap awal dipilih tanaman yang vigor serta tinggi batang minimal adalah 120 cm. Semua tanaman yang memenuhi kriteria tersebut kemudian diseleksi lebih lanjut berdasarkan diameter batang sehingga pada akhirnya terseleksi sebanyak 100 genotipe tanaman yang memiliki diameter antara 1,30 cm – 1,85 cm.

Untuk menyiapkan bahan tanam yang cukup dalam aplikasi teknologi *microcutting*, sebanyak 100 genotipe tanaman karet yang telah diseleksi tersebut diperbanyak atau dibuat duplikatnya dengan cara mengokulasikan mata tunas yang berasal dari masing-masing genotipe pada batang bawah konvensional, berupa tanaman asal biji. Teknik okulasi yang digunakan adalah okulasi hijau (*Pre-green budding technique*) (Gambar 2 A) dan pada tahap ini dibuat sebanyak 10 duplikat tanaman untuk setiap genotipe terpilih.



Gambar 2. Duplikasi bahan tanam karet dari 100 genotipe terpilih. (A) – Tanaman pada tahap 3-4 minggu setelah okulasi. (B) – Bahan tanam karet berupa stum pada saat awal penanaman. (C) – Bahan tanam karet setelah umur 2 bulan (BPBPI-

Bogor). (D) – Bahan tanam karet setelah umur 3 bulan (CIRAD-Montpellier-Perancis).

Sekitar 6 minggu setelah pelaksanaan okulasi, setiap tanaman yang berhasil di okulasi (Gambar 2 A) dipotong sehingga menghasilkan stum (bahan tanam karet) (Gambar 2 B). Sebanyak 3 duplikat stum dari masing-masing genotipe (300 tanaman) ditanam di rumah kaca BPBPI di Bogor (Gambar 2 C), 1 duplikat (100 tanaman) ditanam di rumah kaca CIRAD-Montpellier (Perancis) (Gambar 2 D) dan 6 duplikat (600 tanaman) ditanam di rumah kaca Balai Penelitian Sungei Putih, sehingga jumlah total adalah 1000 tanaman. Di samping itu, tanaman induk (*mother plants*) dipelihara di Balai Penelitian Sungei Putih.

Keseluruhan bahan tanam tersebut dipelihara di rumah kaca dan dapat digunakan sebagai sumber eksplan apabila minimal telah memiliki satu unit lingkaran daun, dan masing-masing daun telah tumbuh sempurna. Akan tetapi untuk memperoleh jumlah eksplan yang cukup, umumnya digunakan bahan tanam yang telah memiliki dua unit lingkaran daun.

2. Adaptasi teknologi *microcutting* untuk lingkungan dan bahan tanam lokal

Aplikasi teknologi *microcutting* untuk perbanyakan klonal tanaman karet memungkinkan apabila beberapa masalah utama dapat diatasi. Masalah tersebut antara lain adalah tingginya tingkat kontaminasi di daerah beriklim tropis seperti Indonesia, baik pada tahap kultur primer (*primary culture*) maupun tahap multiplikasi serta tingginya tingkat kematian plantlet dalam proses aklimatisasi sehingga sulit memperoleh bahan tanam asal *microcutting* di pembibitan.

Upaya untuk menekan tingkat kontaminasi pada kultur primer memerlukan pengaturan dan pemeliharaan yang intensif terhadap tanaman sumber eksplan di rumah kaca. Menurut Enjalric *et al.* (1988), kontrol kondisi aseptik pada kultur primer di daerah tropis dapat dilakukan melalui beberapa upaya, seperti meminimalkan kontak langsung tanaman induk (sumber eksplan) dengan lingkungan luar rumah kaca serta menyeleksi eksplan berdasarkan umur, posisi dan ukurannya pada tanaman induk. Di samping itu, pemberian fungisida secara teratur juga merupakan salah satu cara untuk menekan tingkat kontaminasi.

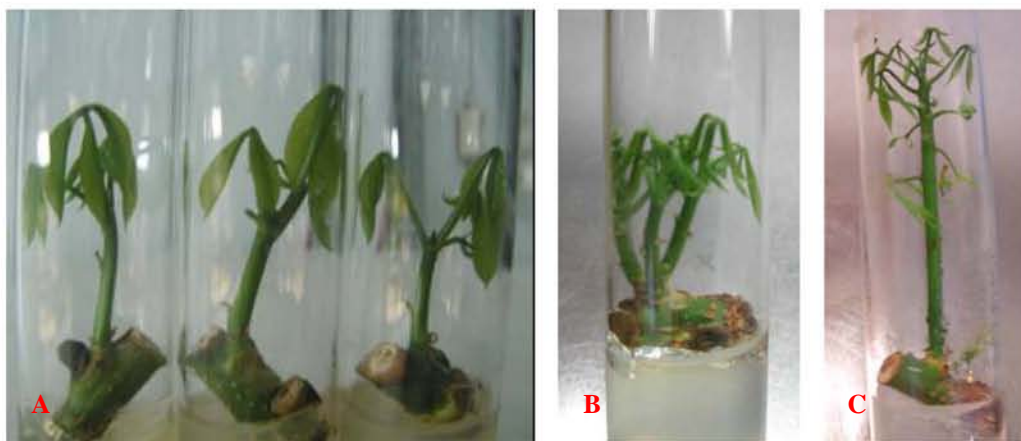
Dengan memperhatikan persyaratan kondisi seperti tersebut di atas, telah dilakukan kultur primer (*Initial/Primary Culture*) terhadap 79 genotipe dari 100 genotipe

tanaman karet terseleksi dalam rangka evaluasi tingkat kontaminasi dan mengamati pertumbuhan eksplan. Dari masing-masing genotipe digunakan 7 - 41 eksplan, tergantung jumlah mata tunas yang diperoleh dari setiap genotipe sehingga jumlah keseluruhan eksplan pada kultur primer adalah 1425. Dari jumlah tersebut, sebanyak 583 eksplan (41 %) terkontaminasi, 184 eksplan (13 %) mati, dan 658 eksplan (46 %) sehat (Tabel 1).

Tabel 1. Kondisi eksplan pada kultur primer

Kultur primer (<i>Primary culture</i>)	Eksplan	%
	1425	100.0
Kontaminasi	583	40.9
Mati	184	12.9
Sehat	658	46.2

Jumlah dan panjang tunas yang terbentuk pada fase kultur primer bervariasi, mulai dari 1 tunas sampai 3 tunas (majemuk) dengan panjang tunas antara 2 – 8 cm (Gambar 3).



Gambar 3. Tunas yang terbentuk pada kultur primer. (A) Tunas tunggal, (B) Tunas majemuk, (C) Tunas tunggal dan panjang

Eksplan yang sehat dan menunjukkan pertumbuhan yang baik dalam kultur primer selanjutnya memasuki tahap multiplikasi melalui subkultur pada media baru. Berbeda dengan tahap kultur primer dimana eksplan hanya berupa '*stock explant*' (S) yaitu eksplan

original yang berasal dari tanaman di rumah kaca, eksplan yang diperoleh pada tahap multiplikasi ada 3 macam, yaitu '*stock explant*' (S), '*nodal explant*' (N) dan '*shoot explant*' (ST). Masing-masing eksplan akan berkembang lebih lanjut, dimana eksplan S akan membentuk tunas-tunas baru, eksplan N umumnya akan membentuk kalus terlebih dulu pada bagian yang bersentuhan dengan media dan selanjutnya membentuk tunas, sedangkan eksplan ST akan membentuk '*stock*' baru melalui pembentukan kalus pada bagian basal batang.

Melalui pemisahan eksplan S, N dan ST dari 658 tanaman sehat pada kultur primer diperoleh sebanyak 653 eksplan pada subkultur pertama tahap multiplikasi, masing-masing terdiri atas 433 eksplan S, 26 eksplan N dan 194 eksplan ST (Tabel 2). Tingkat kontaminasi keseluruhan eksplan tersebut mencapai sekitar 14,4%, sedangkan tingkat kontaminasi masing-masing jenis eksplan, tertinggi pada eksplan N (34,6%) dan relatif sama antara eksplan S dan ST, yakni masing-masing 13,4% dan 13,9%) (Tabel 2).

Tabel 2. Tingkat kontaminasi berbagai eksplan pada tahap multiplikasi

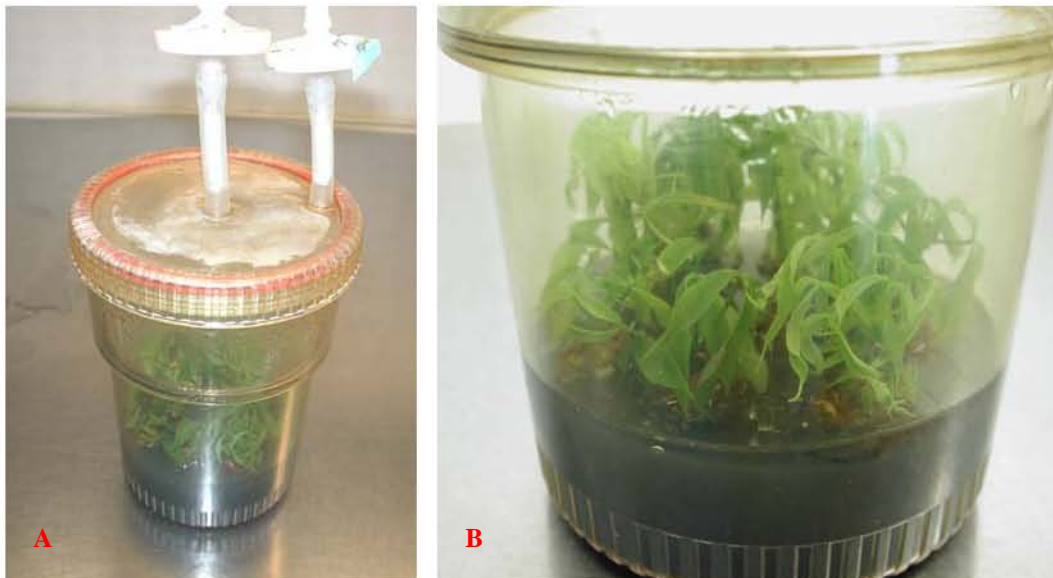
Subkultur pertama	Eksplan	Kontaminasi	%
S1 (<i>Stock explant</i>)	433	58	13,4
N1 (<i>Nodal explant</i>)	26	9	34,6
ST1 (<i>Shoot explant</i>)	194	27	13,9
Total	653	94	14,4

Tingkat kontaminasi yang mencapai sekitar 41% pada tahap kultur primer dan 14% pada tahap multiplikasi masih relatif tinggi. Menurut Carron (komunikasi pribadi), maksimal tingkat kontaminasi pada kultur primer adalah 30% dan pada tahap multiplikasi adalah 5%. Dengan demikian masih diperlukan upaya untuk menekan tingkat kontaminasi sampai pada batas yang ditolerir, dan akan dilakukan dengan mempeetimbangkan beberapa faktor seperti penggunaan bahan pencuci eksplan pada tahap kultur primer serta peningkatan sanitari, baik pada di lingkungan rumah kaca maupun di lingkungan laboratorium.

Tunas yang diperoleh pada tahap multiplikasi dapat diperbanyak terus menerus melalui subkultur berulang selama periode waktu tertentu. Sebelum memasuki tahap induksi perakaran, tunas tersebut diberi perlakuan khusus terlebih dahulu untuk

menguatkan daun (*hardening*). Kondisi tersebut dicapai melalui pemberian cahaya pada siang hari dan tanpa cahaya pada malam hari serta dengan mengurangi kelembaban dari waktu ke waktu. *Hardening* tanaman karet asal *microcutting* dilakukan dengan mentransfer tunas ke dalam media yang mengandung arang aktif di dalam suatu 'Jar' atau botol yang bisa memuat sekitar 10 tunas serta dengan memberikan aerasi secara aktif ataupun secara pasif.

Proses *hardening* yang telah dilaksanakan merupakan kombinasi antara penggunaan media yang mengandung arang aktif dengan aerasi secara aktif selama 2 x 15 menit per hari. Contoh 'Jar' yang digunakan di laboratorium CIRAD (Perancis) serta penampakan tanaman dalam proses *hardening* disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Proses *hardening* pada planlet karet asal *microcutting*. (A) – Kontainer untuk proses *hardening*. (B) – Planlet karet dalam proses *hardening*.

Pada tahap akhir proses *hardening* yang memerlukan waktu sekitar 3 – 4 minggu, daun akan terlihat lebih kuat dan lebih tebal sehingga sesuai untuk masuk ke fase berikutnya yakni induksi perakaran.

Induksi perakaran untuk tunas karet asal *microcutting* dilaksanakan dengan menggunakan media cair yang mengandung zat pengatur tumbuh IBA dan NAA. Perendaman bagian basal batang yang telah dipotong atau dihilangkan kalusnya dilakukan selama 3 hari dalam media tersebut untuk mengakumulasi zat pengatur tumbuh pada

bagian basal yang dipotong. Hal yang perlu mendapat perhatian adalah pemotongan bagian basal batang dilakukan pada posisi miring sehingga memperbesar peluang untuk menginduksi perakaran pada bagian ujung bawah batang (Gambar 5).



Gambar 5. Fase induksi perakaran plantlet (tunas) karet asal *microcutting*. (A) – Proses pemotongan bagian basal batang yang mengandung kalus. (B) – Penempatan plantlet dalam media cair. (C) – Sejumlah plantlet karet pada fase induksi perakaran.

Fase selanjutnya yaitu inisiasi perakaran dilaksanakan dalam media padat yang tidak mengandung zat pengatur tumbuh dan dilakukan selama 5 – 10 hari. Pada tahap akhir fase tersebut, biasanya perakaran belum terlihat pada masing-masing plantlet namun inisiasi kalus sudah dapat diamati. Pembentukan dan perkembangan perakaran umumnya terjadi selama proses aklimatisasi.

Aklimatisasi telah dilaksanakan terhadap 79 plantlet dalam media tumbuh yang mengandung cocopeat, tanah, pupuk kandang dan pasir. Aklimatisasi tahap awal dilaksanakan di dalam kotak kaca yang tertutup rapat di rumah kaca (Gambar 6 A), setelah 3 minggu akar terbentuk pada sebagian besar plantlet (Gambar 6 B) dan kemudian tanaman dipindahkan ke pot dengan volume lebih besar (Gambar 6 C). Setelah 6 bulan tanaman asal *microcutting* tumbuh baik di pembibitan dan dapat diperlakukan sama seperti tanaman hasil perbanyakan konvensional (Gambar 6D).

Secara garis besar, proses aklimatisasi terdiri atas aklimatisasi di rumah kaca dan aklimatisasi di pembibitan, dan masing-masing terdiri atas beberapa tahapan. Setiap tahapan memerlukan kondisi yang berbeda. Inisiasi perakaran memerlukan kelembaban tinggi sehingga kontainer untuk penyimpanan plantlet biasanya tertutup rapat. Sedangkan

perlakuan pemupukan tidak diperlukan pada tahap ini. Pada tahap hardening, kelembaban tinggi masih diperlukan, namun secara bertahap penutup kontainer bisa dibuka untuk menyesuaikan dengan lingkungan di rumah kaca. Di samping itu perlakuan pemupukan mulai diberikan ke setiap tanaman.



Gambar 6. Fase aklimatisasi plantlet karet asal *microcutting*. (A) - Plantlet dalam kotak kaca dengan bagian atas ditutup plastik. (B)- Akar terbentuk setelah 3 minggu. (C) – Penampakan plantlet setelah 3 minggu dalam media untuk aklimatisasi. (D) – Tanaman karet asal *microcutting* di pembibitan.

Aklimatisasi di pembibitan dilaksanakan dengan memberikan sinar matahari secara tidak langsung yaitu dengan meletakkan tanaman di bawah naungan pohon. Pada tahap lanjut pemeliharaan tanaman/bibit sama seperti pemeliharaan bibit secara konvensional. Kedua tahap aklimatisasi di pembibitan tersebut memerlukan pemupukan secara teratur untuk mendapatkan kondisi pertumbuhan yang optimal. Data jumlah plantlet serta kondisi plantlet pada setiap tahap dalam aklimatisasi disajikan dalam Tabel 3.

Tabel 3. Kondisi plantlet karet asal perbanyakan *microcutting* pada beberapa tahap aklimatisasi di rumah kaca dan pembibitan.

Jumlah plantlet	Rumah kaca				Pembibitan	
	Kotak kaca		Sungkup plastik			
	Mati (%)	Hidup (%)	Mati (%)	Hidup (%)	Mati (%)	Hidup (%)
79	9 (11,4)	70 (88,6)	16 (22,9)	54 (77,1)	17 (31,5)	37 (68,5)

Pemeliharaan plantlet dalam kotak kaca dilaksanakan dalam kondisi kelembaban tinggi, dimana kotak kaca sepenuhnya tertutup rapat. Akan tetapi setelah dipindah ke sungkup plastik secara bertahap sungkup dibuka dalam jangka waktu tertentu dan di pembibitan pemeliharaan dilakukan sama seperti pemeliharaan bibit konvensional.

3. Seleksi genotipe yang responsif terhadap lingkungan kultur *in vitro*

Dari penelitian yang telah dilakukan oleh Cirad diketahui bahwa respon setiap genotipe/klon terhadap lingkungan kultur *in vitro* sangat bervariasi. Beberapa genotipe/klon merespon baik sehingga tingkat pertumbuhan di dalam kultur tersebut tinggi, namun genotipe/klon tertentu kurang responsif sehingga tumbuh sangat lambat atau bahkan tidak tumbuh. Berdasarkan hal tersebut di atas, diperlukan seleksi pada tahap awal untuk menentukan genotipe yang akan dijadikan sebagai sumber eksplan di dalam aplikasi teknologi *microcutting*.

Saat ini seleksi sedang dilakukan terhadap 100 genotipe tanaman karet terpilih yang telah diperoleh pada tahap awal penelitian. Seleksi dilakukan berdasarkan jumlah eksplan yang sehat selama fase kultur primer dan jumlah tunas yang diperoleh pada subkultur pertama. Data sementara menunjukkan 12 genotipe menghasilkan tunas 50% atau lebih (Tabel 4).

Tabel 4. Persentase pembentukan tunas beberapa genotipe tanaman karet melalui teknologi *microcutting*

Genotipe	Jumlah eksplan awal	Eksplan sehat (%)	Pembentukan tunas (%)
5	25	40.0	80.0
18	17	70.6	50.0
22	17	47.1	87.5
38	7	57.1	50.0
47	10	40.0	50.0
63	14	57.1	62.5
70	12	50.0	83.3
77	18	50.0	55.6
83	10	60.0	50.0
91	24	66.7	50.0
97	9	66.7	66.7
100	24	54.2	53.8

Proses seleksi genotipe yang responsif terhadap perlakuan kultur masih berlangsung sampai saat ini, bertujuan untuk menyeleksi sekitar 50 genotipe yang akan dikembangkan untuk berbagai pengujian di rumah kaca dan lapang. Dari 50 genotipe tersebut akan diseleksi 10 genotipe terbaik untuk dikembangkan sebagai sumber batang bawah klonal.

KESIMPULAN

Penyediaan batang bawah klonal tanaman karet terasa semakin diperlukan sehubungan dengan keterbatasan yang ditemui di lapang, baik dari segi ketersediaan maupun dari segi kualitas batang bawah yang ada. Di antara teknik kultur *in vitro*, teknologi *microcutting* yang dikembangkan oleh CIRAD untuk tanaman karet berpeluang dimanfaatkan karena setiap tahapan prosedur telah dipahami. Melalui teknologi tersebut dapat diperoleh bahan tanam karet klonal yang memiliki sistem perakaran menyerupai

perakaran tanaman *seedling* sehingga sesuai untuk digunakan dalam perbanyakan batang bawah klonal.

Untuk mengimplementasikan teknologi *microcutting* dalam perbanyakan batang bawah klonal saat ini dilakukan adaptasi berdasarkan bahan tanam dan kondisi lingkungan di Indonesia. Hasil sementara menunjukkan bahwa teknologi tersebut sangat layak untuk diaplikasikan. Meskipun tingkat kontaminasi relatif masih tinggi dibandingkan dengan yang direkomendasikan, namun dari bahan yang tidak terkontaminasi multiplikasi dapat dilakukan terus menerus. Adaptasi terhadap fase-fase selanjutnya seperti *hardening*, induksi perakaran serta aklimatisasi memberikan hasil yang baik. Seleksi genotipe karet telah menghasilkan 12 genotipe yang responsif terhadap perlakuan kultur sehingga untuk selanjutnya genotipe tersebut dapat diperbanyak melalui aplikasi rutin untuk mendapatkan bahan tanam asal *microcutting* yang akan digunakan untuk pengujian okulasi dengan klon batang atas.

Daftar Pustaka

- Abbas BS, Ginting S. 1981. Influence of rootstock and scion on girth increment in rubber trees. *Buletin Balai Penelitian Perkebunan Medan* 12: 145-152.
- Azwar R, Suhendry I. 1998. Kemajuan pemuliaan karet dan dampaknya terhadap peningkatan produktivitas. *Pros. Lokakarya Pemuliaan Karet 1998 dan Diskusi Nas. Prospek Karet Alam Abad 21*; Medan, 8 - 9 Desember. Medan : Puslit Karet.
- Azwar R, Aidi-Daslin, Suhendry I, Woelan S. 2000. Quantifying genetical and environmental factors in determining rubber crop productivity. *Proc Ind Rubb Conf and IRRDB Symp*; Bogor, 12-14 Sept 2000. Bogor : Ind Rubb Res Inst.
- Buttery RB. 1961. Investigation into the relationship between stock and scion in *Hevea*. *Journal of the Rubber Reseach Institute of Malaya*, 17:46-76.
- Carron MP, Enjalric F. 1983. Perspectives du microbouturage de l'*Hevea brasiliensis*. *Caoutchoucs et plastiques*, 627/628: 65-68.
- Carron MP, Lardet L, Dea BG. 1998. *Hevea* micropropagation somatic embryogenesis. *Plantation Recherche, Development* 5(3): 187-194.
- Carron MP, Lardet L, Leconte A, Boko C, Dea BG and Keli J. 2003. Field growth rubber yield of *Hevea brasiliensis* (Muel. Arg.) from budded versus vitro micropropagated plant from clone IRCA 18. *Proc 1st IS on Accl. & Estab Microprop. Plants*. Eds : AS Economou & PE Read. Acta Hort 616, ISHS.2003.
- Carron MP, Le Roux Y, Tison J, Dea BG, Caussanel V, Clair J, Keli J. 2000. Compared root system architectures in seedlings and in vitro plantlets of *Hevea brasiliensis*, in the initial years of growth in the field. *Plant & Soil*, 223 (1/2): 73 – 85.

- Enjalric F, Carron MP. 1982. Microbouturage in vitro de jeunes plants d''Hevea brasiliensis. C. R. Acad. Sc. Paris, Serie III: 259-264.
- Enjalric F, Carron MP, Lardet L. 1988. Contamination of primary cultures in tropical areas: The case of *Hevea brasiliensis*. *Acta Horticulturae* 225: 57-65.
- Lardet L, Bes M, Enjalric F, Carron MP. 1994. Mineral imbalance in *Hevea brasiliensis* microcutting: relation with in vitro multiplication and acclimatization. *J. Plant Nutrit.* 17(12): 2135-2150.
- Madjid A. 1974. Bahan tanam karet unggul untuk peremajaan. *Menara Perkebunan* 42(5) : 267-269.
- Ng AP, Ho CY, Sultan MO, Ooi CB, Lew HL, Yoon PK. 1982. Influence of six rootstock on growth and yield of six scion clones of *Hevea brasiliensis*, *Proc. of the Rubber Reseach Institute of Malaysia Planters' Conference*, Kuala Lumpur 1981: 134-151.
- Tan H. 1995. Variability of cuttings and buddings in three Hevea cultivars. *J. Natural Rubber Res.* 10: 1-7.
- Trigiano RN , Gray DJ. 1999. *Plant Tissue Concepts and Laboratory Procedures*, 2nd edition, CRC Press: 87-96; 119-124.
- Webster CC. 1989. *Propagation, planting and pruning*. In : Webster CC, Baulkwill WJ, editors. Rubber. Singapore : Longman Singapore Publishers (Pte) Ltd.
- Woelan S, Azwar R, Suhendry I, Aidi-Daslin, and Lasminingsih M. 2000. Agronomic characteristics of IRR series rubber clones. *Proc. Indonesian Rubb. Conf. and IRRDB Symp*; Bogor, 12-14 Sept 2000. Bogor : Ind Rubb Res Inst.